# MEMÓRIAS

DO

# INSTITUTO BUTANTAN

1953

Vol. 25

N.º 1

São Paulo, Brasil

Caixa Postal 65

# MEMÓRIAS
## DO
# INSTITUTO BUTANTAN

1953

Vol. 25
N.º 1

São Paulo, Brasil
Caixa Postal 65

As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" são destinadas à publicação de trabalhos realizados no Instituto ou com a sua contribuição. Os trabalhos são dados à publicidade logo após a entrega e reunidos anualmente num volume.

Serão fornecidas, a pedido, separatas dos trabalhos publicados nas "Memórias", solicitando-se nesse caso o obséquio de enviar outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

Toda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

---


INSTITUTO BUTANTAN
Biblioteca
Caixa Postal, 65
S. Paulo, BRASIL.


---


PEDE-SE PERMUTA
EXCHANGE DESIRED.

# INDICE

# DECREASED CLOTTING TIME OF RABBIT BLOOD INDUCED BY SNAKE VENOM INJECTION (*)

B. JANZSKY (**) & J. HELLE (***)

*(Department of Hematology, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil)*

The blood clotting action of different snake venoms, especially of those of the *Bothrops* genus, has been well established, but whether injections of diluted solutions of these venoms have any effect on the coagulability of the blood is still a matter of discussion. The increased coagulability of the blood after injections of snake venom solutions has been reported by different authors and has also been recommended as a treatment in hemorrhagic conditions, Stockton and Franklin (1), Peck and Sobotka (2), Hanut (3), Klobusitzky and König (4). Others authors, Kauer, Bird and Reznikoff (5), more recently, deny the increased coagulability of the blood after injections of venom solutions, and also deny the possible usefulness of snake venom products administered parenterally in hemorrhagic conditions. We thought it interesting therefore to reinvestigate this problem by applying the silicone technique, as described by Quick (6) which makes it possible to observe considerably prolonged normal clotting times. The increased coagulability of the blood can be more easily demonstrated by shortening these prolonged clotting times than with the ordinary Lee and White method.

We found the normal blood clotting time of rabbits to be 37.2 minutes, this being the mean of 30 determinations. Then we injected rabbits with increasing doses of *Bothrops* venom (a saline solution containing 0.3% phenol and 0,75 μg/cc *Bothrops atrox* venom, which was previously heated and precipitated at pH 5.0). We found that doses between 12 μg and 240 μg decreas-

---

(*) This study was supported by a contract with the Conselho Nacional de Pesquisas.
(**) Formely of Instituto Pinheiros, S. Paulo, Brazil.
(***) McGill University, Montreal, Canadá.
Received for publication on February 20, 1953.

ed the clotting time significantly, as shown in Table I. Doses higher than 240 µg. while further shortening clotting times, frequently killed the animals although the toxicity of the heated and precipitated venom is considerably decreased.

TABLE I

*Influence of increased doses of snake venom on clotting time of rabbits, 15 minutes after injection.*

| N.° of rabbits | Dose inj. in µg kg | Coagulation time (mean in minutes) | Standard deviation |
|---|---|---|---|
| 30 | — | 37.2 | 5.2 |
| 5 | 1 | 37.2 | 6.1 |
| 10 | 4 | 35.6 | 2.8 |
| 15 | 15 | 24.5 | 2.7 |
| 10 | 60 | 20.1 | 2.8 |
| 5 | 240 | 18.0 | 2.6 |

To see how long the decreased clotting times could be observed rabbits were injected, then periodically bled. We found that 5 minutes after the injection of 60 µg a significant decrease in clotting time could be observed and that after 5 hours the clotting time returned to normal as shown in Table II. Rabbits injected with an effective dose showed always normal clotting times after 24 hours.

TABLE II

*Influence of time on increased coagulability of rabbit blood. Dose injected, 60 µg/kg.*

| N.° of rabbits | Time after injection minutes | Coagulation time (mean in minutes) | Standard deviation |
|---|---|---|---|
| 7 | 5 | 20.4 | 3.7 |
| 10 | 15 | 20.1 | 2.8 |
| 5 | 30 | 21.4 | 2.6 |
| 5 | 60 | 22.2 | 2.3 |
| 7 | 120 | 22.1 | 2.8 |
| 4 | 300 | 39.5 | 3.5 |

We also injected rabbits with saline containing the same quantity of phenol as the venom solution, to see whether a simple injection i.e. the trauma could, by itself, cause a decreased clotting time. The mean clotting time taken from 12 animals treated in this way, was 39.6 minutes, showing that these injections had no action whatsoever.

The significantly shorter clotting times observed in more than 250 determinations of 130 rabbits after the injections of the heated and precipitated snake venom solution prove the influence of these venoms on the coagulability of rabbit blood. The positive phase lasted for at least 2 hours. After 5 and after 24 hours the clotting times were normal again.

The mechanism by which snake venoms decreased the clotting time of the blood of rabbits is not clear yet. The power of these venoms to activate prothrombin, or their thrombinomimetic action in vitro, cannot be the explanation, as injections of dilute thrombin or thromboplastin solutions did not result in the shortening of the normal blood clotting time. On the contrary, they resulted, confirming Houssay's findings (7) with snake venom, in the slow precipitation of fibrin and the decreased or complete incoagulability of the blood: Jürgens and Studer (8), Gerendás and Csapó (9). Some other mechanism must therefore be involved, perhaps as suggested by Mauro (10) and Breda, Bernardi, and Sala (11), the thromboplastic content is increased by the action of snake venoms. Nevertheless the mechanism of action of snake venoms on blood clotting still remains a matter of investigation.

## SUMMARY

Snake venom *(Bothrops atrox)* injected intravenously in rabbit in dosis between 12 and 240 µg/k produced a shortening of the clotting time measured in siliconized tubes. The mechanism of such action remains a matter of investigation.

## RESUMO

Veneno botrópico *(Bothrops atrox)* injetado na veia de coelhos em doses de 12 a 240 ug/k, produzem um nítido encurtamento do tempo de coagulação, determinado em tubos siliconizados. O mecanismo de ação dêsse fenômeno continua sendo um tema de investigação.

## BIBLIOGRAPHY

1. *Stockton, M. E. & Franklin, G. C. H.* — Antivenin therapeutic in purpura, *J. Amer. Med. Assn.* **96**: 677, 1931.
2. *Peck, S. M. & Sobotka,* H. H. — Production of a refractory state as concerne the Shwartzman phenomenon by the injections of venom of the moccasin snake *(Ancistrodon piscivorus), J. Exper. Med.* **54**: 407, 1931.

3. *Hanut, C. J.* — Recherches préliminaires sur l'emploi des solutions dilués de venin de *Bothrops atrox* comme hémostatiques, *Compt. Rend. Soc. Biol.*. **123**: 1232, 1936.

4. *Klobusitsky, D. & König, P.* — Biochemische Studies uber die Gifte der Schlangengattung *Bothrops;* die Wirkung der gerinnugsfordernden Substanz *in vivo, Arch. Exper. Path. u. Pharmakol.* **172**: 577, 1936.

5. *Kauer, G. L.; Bird, R. M. & Reznikoff, P.* — The clotting action of fer-de-lance venom, *Amer, J. Med. Sc.* **205**: 16, 1936.

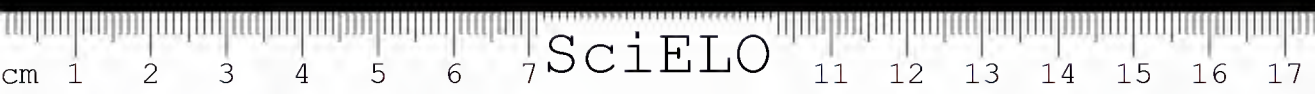
6. *Quick, A. J.* — The Physiology and Pathology of Hemostasis, Philadelphia, Lea & Feabiger, 1951, pp. 104.

7. *Houssay, B. A. & Sordelli, A.* — Estudios sobre los venenos de serpientes. V. Influencia de los venenos de serpientes sobre la coagulacion de la sangre, *Rev. Inst. Bact. Malbran* **1**: 485, 1918.

8. *Jurgens, R. & Studer, A.* — Zur Wirvung des Thrombins, *Helvet. Physiol. et Pharmacol. Acta* **6**: 130, 1948.

9. *Gerendás, M. & Csapó, A.* — Intravenose Thrombinwirkung, *Arch. Biol. Hung.* **18**: 181, 1948.

10. *Mauro, C.* — Sulla azione emocoagulante del veleno del *Bothrops jararaca* (contributo sperimentale e clinico). *Gior. Ital. Chir.* **5**: 488, 1949.

11. *Breda, R.; Bernardi, R. & Sala, F.* — Richerche clinico-sperimentale sull'azione coagulante del veleno di *Bothrops jararaca, Gior. Clin. Med.* **32**: 1, 1951.

# PREPARO DO ANTÍGENO PARA INTRADERMO-REAÇÃO NA ESQUISTOSSOMOSE

JOSÉ M. RUIZ

*(Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)*

No estudo do problema tão atual da esquistossomose há muitos aspectos a abordar. Nenhum deles foi até a presente data resolvido plena e satisfatòriamente. Sem dúvida dos mais importantes é o que se refere ao diagnóstico. Podemos afirmar que na esquistossomose, método algum de diagnóstico permite uma segurança de 100%, não por culpa do método em si, mas por fatores outros independentes do próprio método diagnóstico.

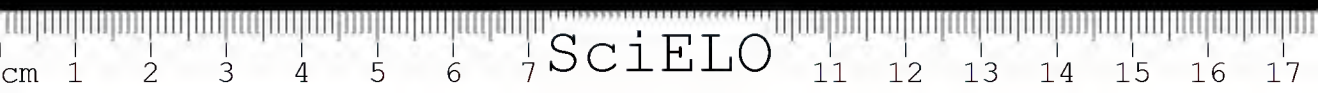
A intradermo-reação constitúi atualmente o método biológico mais seguro e prático para o diagnóstico de esquistossomose. Como tôdas as reações biológicas está sugeita, é claro, à variação da sensibilidade individual o que lhe diminúi em parte o valor. Mesmo assim, dentro das reações cutâneas é uma das mais sensiveis e específicas.

O preparo de bons antígenos para essa prova será sem dúvida o primeiro passo do qual dependerão os resultados.

As discordâncias observadas entre diversos autores na interpretação das reações intradérmicas, devem ser antes atribuidas à diversidade das condições de trabalho e do antígeno empregado do que à excelência do método.

Três tipos de antígenos foram empregados em tais provas: de hepatopâncreas de moluscos infestados, cercárias de *Schistosoma* e *Schistosoma* adultos. Não nos referimos aqui aos antígenos heterólogos que não conseguiram se introduzir na prática.

O antígeno preparado a partir de hepatopâncreas de moluscos infestados com cercárias de *Schistosoma*, foi introduzido por Fairley e Willians (4), primeiros autores a praticar a intradermo-reação no diagnóstico da esquistossomose. A partir de então, numerosos pesquisadores têm publicado trabalhos valiosos

Recebido para publicação em Abril de 1953.

sôbre o asunto, tendo sido estudados isolada ou comparadamente antígenos de vermes adultos e de cercárias. Desde logo se verificou que o antigeno de hepatopâncreas não se mostra tão eficaz quanto os demais.

O antígeno de vermes adultos é o mais usado. Com resultados práticos comparáveis ao de cercárias, é de obtenção mais fácil e mais segura, embora dependa da inoculação prévia de animais de laboratório. Esse trabalho entretanto é compensado pela segurança da identificação específica, pelo maior rendimento e pela pureza do antigeno obtido.

A técnica mais generalizada para a obtenção do antígeno é, em linhas gerais, a seguinte:

Obter vermes adultos de animais infestados há cerca de dois meses. Coletar os vermes em solução fisiológica, lavá-los diversas vêzes com novas porções dessa solução e por fim com água distilada. Esgotar a água e colocar o material no refrigerador. Dessecar o material no vácuo, em presença de ácido sulfúrico ou carbonato de cálcio. Pulverizar os vermes secos. Submeter o pó a uma extração aquosa, usando como líquido extrator uma solução de Coca mertiolatada a 1:5.000 ou 1:10.000 ou fenolada a 0,4%. A extração é feita no refrigerador, durante 2 ou 3 dias ou mais, agitando-se o líquido diàriamente. Após centrifugação e filtração obtem-se uma solução estoque que será diluida convenientemente para uso.

Há três pontos essenciais na consecução do antígeno, que ainda não estão perfeitamente padronizados: 1) obtenção de um antígeno purificado; 2) condições da extração relativas ao tempo e à temperatura e 3) proporção de líquido a empregar para a extração total.

Foge à finalidade da presente nota a discussão dêsses vários pontos em seus pormenores.

A proporção de liquido usado na extração é um ponto que diverge com os autores. Oliver Gonzalez e Pratt (7), Coutinho (2) e outros fazem a extração na proporção de 1.0 g de pó para 100 ml de líquido. Meyer e Pifano (5,6), Vianna Martins (9) fazem uma extração arbitrária, isto é, na proporção de mais ou menos 100 vermes, de ambos os sexos, por ml de liquido.

Seria de desejar a padronização dêsse detalhe técnico para avaliar comparativamente o valor dos antigenos. A pesagem de grande número de vermes não oferece a menor dificuldade. Pequenas amostras de pó constituem sem dúvida um problema, pois nem sempre os laboratórios de parasitologia são aparelhados com balanças de alta precisão. Pensamos resolver esse obstáculo, determinando o pêso médio de um *Schistosoma* e estabelecendo uma fórmula que indique a quantidade de liquido a ser usada. Obter-se-á assim um antigeno estoque sempre na mesma proporção. É evidente que existirá uma

causa de êrro inversamente proporcional ao número de vermes. Esse êrro entretanto é desprezivel e talvez menor que o das pesagens isoladas.

Parece existir ligeira variação de talhe nos *Schistosoma mansoni* de acôrdo com o animal utilizado na experimentação. Esse pormenor está sendo estudado atualmente em nosso laboratório.

O animal que melhor se presta para a finalidade em apreço é, a nosso ver, a cobaia. Os *Schistosoma* de desenvolvimento normal obtidos nesse animal têm, depois de perfeitamente sêcos, o seguinte pêso médio: machos 0,000082 g ou 82 mcg., fêmeas 0,000023 g ou 23 mcg. Para obter uma sol. estoque a 1% poder-se-á aplicar a seguinte fórmula:

$$\frac{82\ M + 23\ F}{10{,}000} = X$$

sendo *X* a quantidade de liquido em ml a utilizar, 82 e 23 os pesos médios em mcg dos exemplares adultos machos *M*, e fêmeas *F*, respectivamente. Em nossa rotina achamos mais interessante fazer a extração a 1:200. Neste caso divide-se o denominador da fórmula por dois.

*Nova técnica para a obtenção do antigeno.*

Baseados nos principios: 1) que a substância responsável pelas reações atópicas está contida na fração polissacaride; 2) que o álcool absoluto e o éter sulfúrico não dissolvem e não alteram a referida substância e que 3) extraem ou eliminam as frações lipóide e protéica nas condições expostas a seguir, idealizamos uma nova técnica para a obtenção do antigeno para intradermo-reação na esquistossomose que apresentasse um alto grau de pureza sendo ao mesmo tempo de fácil consecução. Como os resultados fossem bons passamos a divulgá-la.

A 20 de janeiro do presente ano foi apresentada e discutida na reunião mensal da Sociedade de Biologia de São Paulo.

Os antigenos para intradermo-reação como são preparados atualmente constituem um extrato aquoso total com certa quantidade de proteinas e de lipóides, ou um complexo lipóide de constituição coloidal. Tratando prèviamente o material a ser extraido pelo álcool absoluto e éter sulfúrico, proteinas e lipóides são eliminados de maneira mais ou menos completa. Obtem-se assim um antigeno grandemente purificado.

A seguinte técnica nos forneceu ótimos resultados:

1 — Recolher os vermes adultos obtidos por infestação experimental de cobaias, por meio de perfusão do figado e mesentério.

2 — Coletar os vermes em solução fisiológica numa pequena placa de Petri.

3 — Passar os vermes para um Becker de 20 a 30 ml de capacidade, contendo 15 a 20 ml de uma mistura de álcool absoluto e éter sulfúrico em partes iguais. Contar ao mesmo tempo o número de vermes de ambos os sexos. Usar álcool e éter de bôa qualidade. Deixar o material coberto à temperatura ambiente.

4 — Após 4 a 24 horas, esgotar o álcool-éter, emborcando cuidadosamente o frasco que deve permanecer, cêrca de um minuto, invertido sôbre um papel de filtro (Esse líquido evaporado deixa um pequeno resíduo que dá forte reação pelo ácido ósmico manifestada por um enegrecimento acentuado).

5 — Dessecar os vermes no vácuo durante meia hora. Os vermes ficam soltos, muito alvos e a secagem é muito rápida.

6 — Transferir os vermes para um tubo de centrifugação estéril e triturar com um fino bastão de vidro, reduzindo-os a pó bem fino. Nesta operação é preciso cautela porque os vermes ressecados se projetam à longa distância sob a pressão do bastão.

7 — Juntar ao pó 10 a 15 ml de álcool-éter, agitar bem e deixar em contacto uma ou duas horas.

8 — Esgotar o álcool-éter e dessecar o pó novamente no vácuo, durante 10 a 15 minutos (O resíduo deixado pela evaporação desta nova porção de álcool-éter dá ainda reação positiva para lipóides).

9 — Juntar ao pó a quantidade de líquido extrator indicado pela fórmula:

$$\frac{82\ M + 23\ F}{5.000} = X$$

Usar como líquido extrator solução de Coca mertiolatada a 1:5.000 ou 1:10.000. Deixar em contacto dois ou três dias à temperatura ambiente ou oito dias no refrigerador.

10 — Centrifugar em alta rotação durante 20 minutos. O líquido sobrenadante, límpido e incolor, constitúi a solução estoque que deve ser ampolada ou guardada em flaconétes estéreis. Êste extrato mostra-se estéril, não revela traços de proteínas (pelo ácido fosfo-molíbdico, ácido fosfo-túngstico ou pela reação do biureto, nem de lipóides, pelo ácido ósmico, sendo a reação de Molish nitidamente positiva).

Não experimentamos a extração rápida a quente (56°C) preconizada por Meyer e Pifano (6) e Coutinho (3).

Inicialmente preparamos o antígeno por técnica semelhante à de Meyer e Pifano (5) e Coutinho (1). A titulação foi feita, segundo as indicações de Vianna Martins (9), em indivíduos, eliminando ovos de *S.mansoni*. Obtivemos um título, com muita margem de segurança, de 1:8.000. Aliás, esse título é um número arbitrário porque consideramos a solução estoque como sendo a 1% e pelo processo usado os vermes não são pesados mas contados indistintamente e a extração é feita na proporção de 100 vermes para cada ml de líquido extrator. Demos a esse antígeno o prefixo *P1*, para nosso contrôle.

Fizemos um lote de antígeno pela técnica que acabamos de descrever, utilizando porém um número de vermes correspondente ao utilizado em *P1*. Esse antígeno foi designado *P5* e usado na mesma diluição de 1:8.000.

*P1* foi testado inicialmente em 19 casos (tabela I).

*P1* e *P5* foram testados comparativamente em 89 casos (tabela II).

P5 foi testado isoladamente em 44 casos (tabela III).

Todas as provas foram controladas, usando-se como testemunha o líquido de Coca mertiolatado. A leitura das reações obedeceu ao seguinte critério:

Reação negativa (—). Pápula igual ou ligeiramente maior que a formada pelo líquido testemunha, ou pápula inicial.

Reação duvidosa (±). Pápula com menos do dôbro da do testemunha, de bordos lisos ou regulares. Pápula maior de bordos indecisos.

Reação positiva fraca (+). Pápula com o dôbro da do testemunha, um tanto irregular ou um pouco maior, de bordos lisos.

Reação positiva média (++). Pápula com cêrca de 3 vêzes o diâmetro da do testemunha de bordos um tanto irregulares ou o dôbro da do testemunha e pseudópodos nítidos.

Reação positiva forte (+++). Pápula com mais de 3 vêzes o diâmetro da do testemunha ou um pouco menor porém com pseudópodos muito longos.

TABELA I

*Casos testados com antígeno P1.*

| | Comprovadamente positivos | Suspeitos de zonas endêmicas | Não suspeitos Ex. fezes neg. |
|---|---|---|---|
| Número de casos .... | 5 | 7 | 7 |
| Positivos . . . . . | 5 | 2 | 1 |
| Negativos . . . . . | 0 | 5 | 6 |

TABELA II

*Casos testados comparadamente com os antigenos P1 e P5.*

| | Comprovadamente positivos | Suspeitos com Ex de fezes neg. | Não suspeitos Ex. de fezes neg. |
|---|---|---|---|
| Número de casos . . . | 11 | 67 | 11 |
| Positivos P1 | 10 | 14 | 0 |
| Positivos P5 | 11 | 18 | 0 |
| Negativos P1 | 0 | 45 | 11 |
| Negativos P5 | 0 | 45 | 11 |
| Duvidosos P1 | 1 | 8 | 0 |
| Duvidosos P5 | 0 | 4 | 0 |

Em 8 casos houve pequena discordância entre duvidoso e fracamente positivo. Em 7 casos positivos as reações foram mais nítidas com P5 e em um caso com P1. A concordância, práticamente, foi de 100%, ambos com especificidade e sensibilidade 100%.

TABELA III

*Casos testados com antigeno P5, em pessoal residente na cidade de Caratinga, Minas Gerais, zona de alta endemicidade*

| | Sem indicação | Sabidamente positivos | Tratados, sem exames de fezes após o tratamento | Com exame de fezes negativo | Suspeitos Sem exame de fezes |
|---|---|---|---|---|---|
| Números de casos . . . . | 8 | 10 | 4 | 21 | 1 |
| Positivos . . . | 3 | 9 | 1 | 8 | 1 |
| Negativos . . | 5 | 1 | 3 | 13 | 0 |

Houve uma discordância entre os comprovadamente positivos.

Os casos com exame de fezes negativos não são excluidos com segurança numa zona de alta endemicidade. Sete dos oito indivíduos com reações positivas fizeram um único exame de fezes e um fêz dois exames negativos.

Num dos casos não suspeitos da *Tabela I* cuja reação era positiva (++) foi feita nova reação, cêrca de dois meses depois, com antígeno obtido pelo processo exposto (antígeno PS-15); o resultado foi negativo.

Em conclusão verifica-se que o antígeno preparado pela técnica proposta não é inferior ao obtido pelo processo de Meyer e Pifano (5), tendo mesmo uma ligeira superioridade devido talvez à maior pureza do extrato.

Recentemente Coutinho (3), em trabalho que nos chegou às mãos depois de elaborado o nosso, apresentou uma nova técnica de preparo do antígeno de vermes adultos. Consta, sumàriamente, em tratar os vermes por repetidas porções de acetona, secagem no ambiente de laboratório ou na estufa a 37°C e extração aquosa em geladeira ou em banho-maria a 56°C, conforme técnica de Meyer e Pifano (6). O autor ressalta a maior sensibilidade das reações com esse novo antígeno.

RESUMO

É apresentada uma nova técnica ao preparo do antigeno para intradermoreação na esquistossomose. Consiste em tratar os vermes adultos, obtidos de cobaias, por uma mistura, em partes iguais, de álcool absoluto e éter sulfúrico p. a., dessecamento no vácuo, trituração dos vermes secos e lavagem do pó com outra porção de álcool-éter; nova secagem no vácuo e extração pelo líquido de Coca mertiolatado. A extração é feita na proporção de 1:200. A quantidade de líquido extrator a ser usada em cada amostra de pó é dada pela fórmula:

$$\frac{82\ M + 23\ F}{5.000} = X$$

donde *82* e *23* representam os pesos médios, em *mcg* dos exemplares adultos machos e fêmeas, (M) e (F), respectivamente.

O antigeno foi testado comparativamente com outro preparado, segundo a técnica de Meyer e Pifano (5), em 89 casos (11 comprovadamente positivos, 67 de indivíduos de zonas suspeitas e 11 sabidamente negativos). Os resultados concordam em, pràticamente, 100% dos casos, porém o novo antigeno se mostrou ligeiramente mais sensível e específico.

O método proposto é de mais fácil consecução, sendo o antigeno obtido em grande gráu de pureza, sem traços de proteinas e lipóides e com reação de Molisch (polisacárides) positiva. O resíduo obtido pela evaporação dos líquidos de lavagem (álcool-éter), reage fortemente com o ácido ósmico, revelando sua natureza lipoídica.

SUMMARY

A new technique for antigen preparation to schistosomiasis intradermal diagnosis is presented. It consists in: I) — Treat the adult worms (obtained from guinea-pigs) with a mixture of alcohol and ether in equal amounts, before dissecating in vacuum. II) — Triture the dried worms and wash the power with another amount of alcohol-ether. III) — Vacuum again and extract with the Coca merthiolated liquid. The extraction is made in the proportion of 1:200. The quantity of extractor liquid to be used, with each amount of power, is given by the formula:

$$\frac{82\ M + 23\ F}{5.000} = X$$

*X* is the quantity (ml) of extractor liquid to be used. *82* and *23* are the medium weight (mcg) of the adult worms, males (M) and females (F) respectively.

The antigen was tested comparatively with another one prepared according to the Meyer and Pifano's method (5) in 89 cases (11 surely positives, 67 from suspected zones individuals and 11 surely negatives). The results agree in 100% the cases but the new antigen has shown to be slightly more sensible and specific.

The antigen by the proposed method is more easely prepared being obtained in a high degree of purity without traces of proteins and lipoids and presenting Molisch reaction (polysaccharides) positive.

The residual obtained by the evaporation of the alcool-ether mixture reacts strongly with the osmic acid showing its lipoidic nature.

BIBLIOGRAPHY

1. *Coutinho, J. O.* — Nota sôbre a intradermo-reação no diagnóstico da esquistossomose de Manson. *Rev. Paul. Med.*, **33**: 15-20, 1948.

2. *Coutinho, J. O.* — Contribuição ao estudo da esquistossomose mansônica no Estado da Bahia, Brasil. *Arq. Hig. Saude Publica*, **16**: 1-42, 1951.

3. *Coutinho, J. O.* — Nova técnica de preparo de antígeno de vermes adultos para a intradermo-reação na esquistossomose. *Folia Clin. Biol.* **18**: 121-124, 1952.

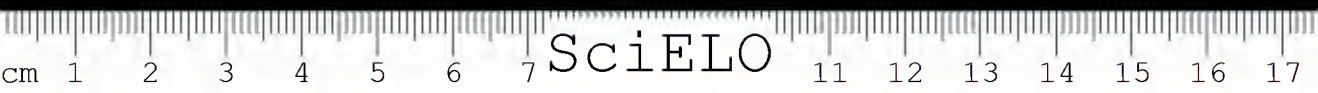
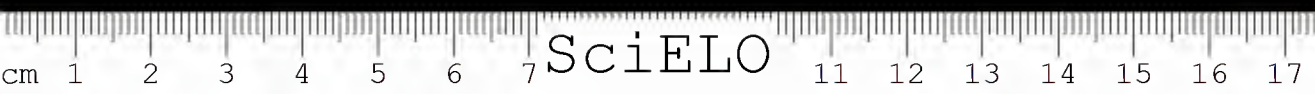
4. *Fairley, N. H. & Willians, F. E.* — A preliminary report on an intradermal reaction in Schistosomiasis. *Med. J. Australia*, **14**: 811-818, 1927.

5. *Meyer, M. & Pifano, F.* — El diagnostico de la Schistosomiasis por la Intradermorreacción con un antigeno preparado de vermes adultos de *S. mansoni*. *Rev. Sanid. Assist. Social*, **10**: 3-44, 1945.

6. *Meyer, M. & Pifano, F.* — Experiencias de ocho años en la elaboracion y aplicacion de um antigeno de vermes adultos de *Schistosoma mansoni* para la intradermoreaccion diagnostica de la Bilharziasis. *Arch. Venez. Patol. Trop. Paras. Med.*, **1**: 1-35, 1949.

7. *Oliver- Gonzalez, J. & Pratt, C. K.* — Skin and precipitin reaction to antigens from cercariae and adult of *Schistosoma mansoni*. *Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med.*, **2**: 242-248, 1945.

8. *Taliaferro, W. H. & Taliaferro, L. G.* — Skin reaction in persons infected with *Schistosoma mansoni*. *Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med.*, **7**: 23-35, 1931.

9. *Vianna Martins, A.* — Diagnóstico de Laboratório de Esquistossomose Mansoni. *Tese de concurso para Prof. Catedrático. Faculd. Med. Univ. Minas Gerais. Imprensa Oficial*, 265 pp. 1949.

# A NEW *BOTHROPS* FROM BRAZIL. *BOTHROPS BRAZILI*, SP. NOV.

A. R. HOGE

*(Departament of Ophiology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil)*

Among the small collection of snakes received from the Cooperativa Agricola "Tomé Assú", a new species had been discovered which is desirable to describe and name at present time.

*Bothrops brazili*, sp. nov. (*)

*Holotype* — N.º 14.721 in the Butantan Institute, a ♀ from Tomé Assú, Acará Mirim River, State of Pará, Brazil.

*Allotype* — N.º 14.715 in the Butantan Institute collection, a ♂ from the same locality as holotype.

*Diagnosis* — A *Bothrops* without nasal pore; subcaudals in two rows; 2nd upper labial forming the anterior border of loreal pit; a very enlarged canthal. This species is allied to *Bothrops jararacussu* (Lacerda) but easily distinguished from it by the different shape of skull, pattern and colour.

At first glance *B. brazili* is very similar in pattern to *B. neglecta* Amaral and *B. pirajai* Amaral but easily distinguished by the absence of nasal pore in *B. brazili*.

*Description of holotype* — Internasals small, in contact behind the rostral which is deeper than broad; 2nd canthal very large, a little longer than broad, separated from its fellow by three keeled scales (in front only two; supraoculars large, longer than broad, separated by 8 keeled scales; top of head and neck covered with small keeled scales; 8-9 upper labials, 2nd forming the anterior border of loreal pit; first upper labial as deep as long, all other labials, except the last, deeper than long; 11-10 lower labials, two anteriors in contact behind the symphysial; nasal divided without pore, separated from the 2nd upper labial by a series of three diminute scales; dorsal scales

(*) Dedicated to Dr. Vital Brazil, founder of the Instituto Butantan.

Received for publication on July, 1953.

strongly keeled in 28 on the neck, 26 at midbody and 20 series at anus. The keels of scales are very similar to those of *Lachesis muta* (L.) Ventrals 179; caudals 54/54; anal single. Ground colour pale brown, nearly white when "stratum corneum" is lacking); 14 blotches (for shape see Fig. 4) on the body and 14 on the tail (Fig. 7); belly white, powdered with brown on the sides (Fig. 5).

Head of the ground colour without markings, chin white; lower parts of tail white gradually powdered with brown posteriorly (Fig. 5).

Length of body (head inclusive) 1.003 mm.; tail 155 mm.

*Aliotype* — N.º 14.715, ♂. Dorsals 25; ventrals 175; anal single; caudals 59/59+5; 8 upper labials, the second forming anterior border of the loreal pit, but at the left side the second upper labial is semi-divided; 12-11 lower labials; length of body + head 672 mm.; tail 120 mm.; head 35 mm. Colour and patterns nearly the same as holotype but dorsal markings a little smaller downwards. Other difference in caudals and ventrals are doubtless sexual dimorphism.

## RESUMO

Descrição de uma nova espécie de *Bothrops*, *B. brazili*, procedente de Tomé Assú, Estado do Pará, Brasil.

A nova espécie é próxima a *B. jararacussu* (Lacerda) porém diferente pelo formato do crâneo, desenho, colorido e tipo de carenas.

*Acknowledgements* — We are indebted to Mr. Francisco Alves Soares, Director of the "Colonia Estadual Tomé Assú" and Mr. Hiraga Renkichi, President of the "Cooperativa de Tomé Assú" for the gift of a small collection of snakes.

## BIBLIOGRAPHY

*Amaral, A. do* — New Genera and Species of Snakes — *Proc. New England Zool. Club* **8**: 100, 1923.

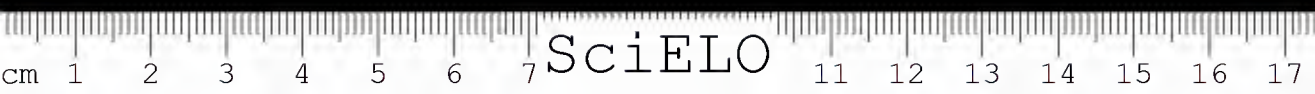



Fig. 1 — Photography *Bothrops brazili*, lateral view of head (Holotype).

Fig. 2 — Photography *Bothrops brazili*, ventral view of head (Holotype).

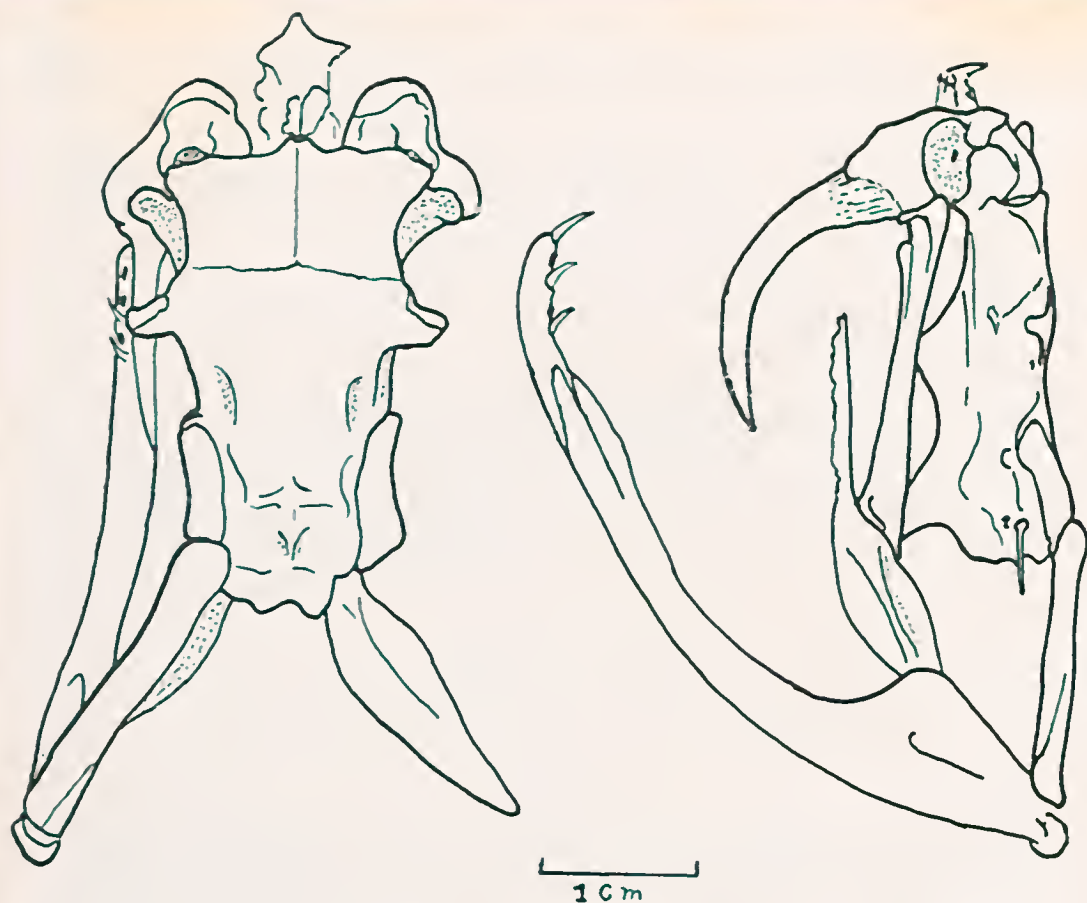
Fig. 3 — Photography *Bothrops brazili*, dorsal view of head (Holotype).

Fig. 4 — Photography *Bothrops brazili*, dorsal view and detail of tail (Holotype).

Fig. 5 — Photography *Bothrops brazili*, ventral view (Holotype).

6

Fig. 6 — Photography *Bothrops brazili*, dorsal view (Allotype).

1 cm

Skull of *Bothrops brazili* (Holotype)

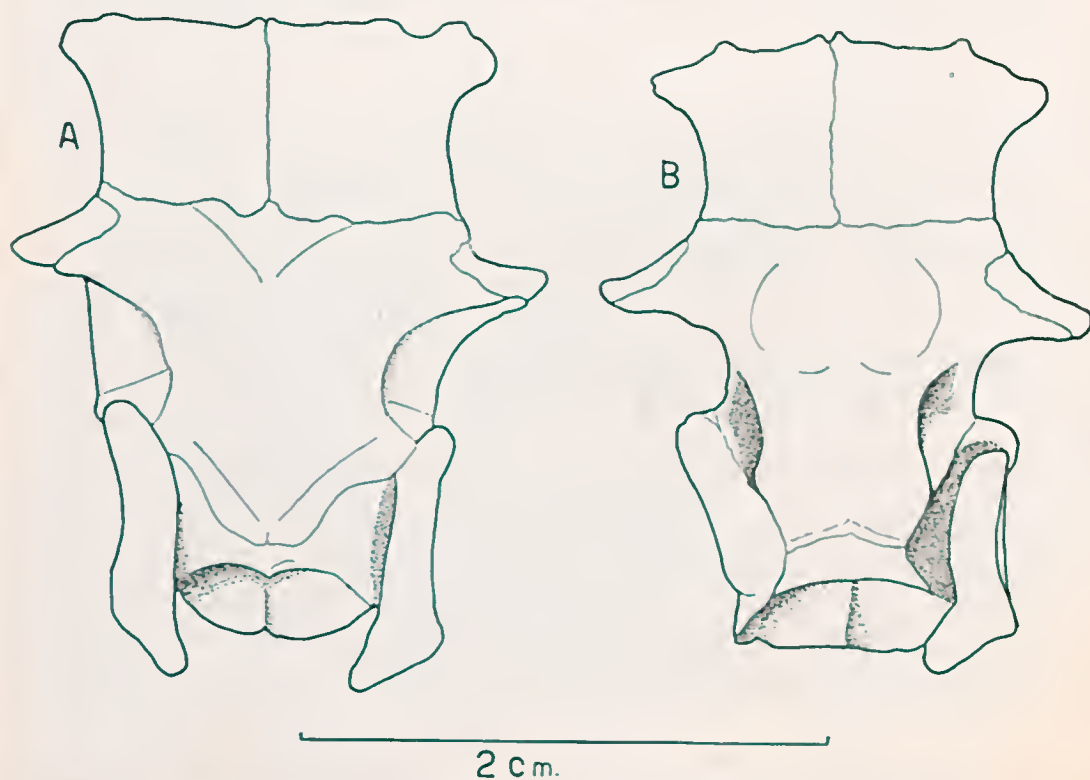
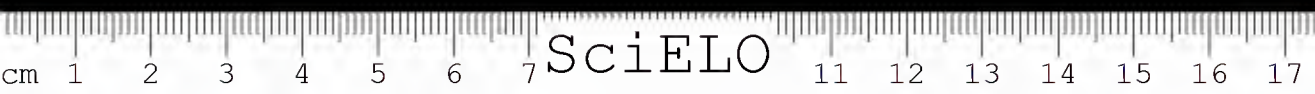



Fig. 7 — Camera lucida drawning of:

A — *Bothrops jararacussu*, dorsal view of skull.

B — *Bothrops brazili*, dorsal view of skull.

# ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL

3. *Cuniculus pacca pacca* e *Grison furax*, novos animais receptíveis a infestação pelo *Schistosoma mansoni*.

JOSÉ M. RUIZ

*(Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)*

Prosseguindo na série de experimentações que encetamos no sentido de ampliar o conhecimento sobre os animais silvestres passíveis de infestação pelo *Schistosoma mansoni*, na presente nota damos notícia de dois representantes comuns da nossa fáuna receptíveis à infestação experimental: a "paca", conhecidíssimo roedor da família *Caviidae* e o "furão", carnívoro representante da família *Mustelidae*.

## MATERIAL E MÉTODO

Animais recebidos pelo Instituto, no estado de adultos: um exemplar de paca do sexo feminino, procedente de localidade não especificada do Estado de São Paulo e três exemplares de furões, dois dos quais procedentes de Feira de Sant'Ana, Bahia e um de Avaré, Estado de São Paulo. Os três exemplares (2 fêmeas e 1 macho) da mesma espécie, *Grison furax* Thomas, 1907, seg. Vieira, foram colocados na mesma gaiola.

Exames de fezes repetidos para a pesquisa de ovos de *S. mansoni*, usando-se o processo de sedimentação, resultaram negativos durante o periodo de incubação da infestação experimental.

Infestação por via transcutânea, região abdominal, raspando-se prèviamente os pêlos e humedecendo a região com água morna.

A paca foi infestada com cêrca de 600 cercárias de *S. mansoni*, obtidas pela dissecação de 4 moluscos procedentes de Dom Cavati, Minas Gerais. A avaliação numérica das cercárias foi baseada na média da contagem das mesmas em cada gota de liquido, utilizando para a infestação um número determinado de gotas. A infestação foi feita no ambiente de laboratório, aque-

Recebido para publicação em Abril de 1953.

cendo e iluminando a região ventral do animal com uma lâmpada comum. Exposição à infestação durante cêrca de 50 minutos, tempo suficiente para a evaporação do líquido.

Os furões foram infestados de maneira semelhante mas foi necessário anestesiá-los pelo éter, dada a agressividade de que são dotados êstes animais. Foram utilizados quatro moluscos do mesmo lote de Dom Cavati, porém o número de cercárias não foi determinado. Os fragmentos de moluscos foram distribuidos equitativamente, sobre o ventre dos 3 animais.

A coleta de vermes no sistema porta foi feita por processo manual. Evitamos o método de perfusão para não provocar possíveis alterações nos órgãos destinados a futuros estudos anátomo-patológicos.

O número de vermes coletados, portanto, fica aquém do realmente existente na infestação.

## RESULTADOS

"Paca", *Cuniculus pacca pacca.*

Data da infestação: 3 de dezembro de 1952.
Eliminação de ovos: 29 de janeiro de 1953.
Tempo decorrido entre a infestação
e a eliminação de ovos: 57 dias.
Data da necrópsia: 12 de março de 1953.
Vermes coletados: 24 machos e 10 fêmeas.

De 29/1/53 a 12/3/53 foram feitos 16 exames de fezes dos quais 13 positivos para ovos de *S. mansoni.*

"Furões", *Grison furax.*

Data da infestação: 4 de dezembro de 1952.
Eliminação de ovos: 29 de janeiro de 1953.
Tempo decorrido entre a infestação
e a eliminação de ovos: 56 dias.

*1.ª necrópsia:* Um exemplar fêmea: 30 de janeiro de 1953.

Vermes coletados: 137 machos e 12 fêmeas.

O casal restante permaneceu na mesma gaiola de 30 de janeiro a 26 de fevereiro de 1953. Nesse período foram praticados 7 exames de fezes dos quais 6 foram positivos para ovos de *S. mansoni.*

*2.ª necrópsia*: Um exemplar macho: 26 de fevereiro de 1953.
Vermes coletados: 182 machos e 4 fêmeas.

A fêmea restante permaneceu em cativeiro, continuando a eliminação de ovos regularmente. De 28 de fevereiro a 16 de março de 1953 foram efetuados 5 exames de fezes todos positivos para ovos de *S. mansoni*.

*3.ª necrópsia*: Último exemplar fêmea: 17 de março de 1953.
Vermes coletados: 310 machos e 16 fêmeas.

## COMENTÁRIOS

Comparado com o que se verifica nos hospedeiros melhor adaptados à infestação pelo *S. mansoni*, considerando o tempo de incubação e a regularidade de eliminação de ovos, êstes animais mostraram-se muito propícios à infestação que apresenta um curso normal.

A eliminação de ovos viáveis foi verificada com grande regularidade, apesar da pequena proporção de fêmeas encontradas em todos os animais. Este fato evidencia a importância dêstes animais como prováveis disseminadores da parasitose no caso de se verificar a infestação em condições naturais, fato perfeitamente admissível.

Os animais não deram mostra da infestação, ao contrário adquiriram melhor aspecto e engordaram no período de cativeiro.

As lesões macroscópicas observadas no fígado se apresentam como pontuações esbranquiçadas, esparsas e relativamente raras, apesar do grande número de vermes machos não acasalados e bem desenvolvidos que permaneciam na veia porta e suas grandes ramificações intra-hepáticas e mesentéricas.

Os vermes coletados, tanto da paca como dos furões, apresentam geralmente o aspecto normal: todas as fêmeas acasaladas e bem desenvolvidas; machos robustos em geral, apenas alguns exemplares com desenvolvimento anormal (formas pequenas). O estudo morfológico dos vermes será feito em separado.

## RESUMO

Foram infestados no laboratório, com cercárias de *Schistosoma mansoni*, por via transcutânea, uma paca, *Cuniculus pacca pacca* e 3 furões, *Grison furax*.

A paca foi infestada com cêrca de 600 cercárias e eliminou óvos viáveis a partir do 57º dia da infestação. Na necrópsia, feita aos 118 dias de infestação, foram coletados, por processo manual, 24 exemplares machos e 10 exemplares fêmeas de *S. mansoni*, adultos e perfeitamente desenvolvidos.

Os furões foram infestados por um número desconhecido de cercárias. O exame de fezes coletivo revelou a presença de ovos viáveis de *S. mansoni* no 56º dia da infestação. A eliminação de ovos nestes animais mostrou-se muito regular.

As necrópsias foram feitas no 57º, 74º e 103º dias da infestação tendo sido coletados os seguintes vermes adultos, respectivamente: 137 machos e 13 fêmeas, 182 machos e 4 fêmeas e 310 machos e 16 fêmeas.

## SUMMARY

One specimen of *Cuniculus pacca pacca,* paca and three specimens of *Grison furax,* furão were experimental infected by *Schistosoma mansoni.*

*Cuniculus pacca pacca* was infected with approximately 600 cercariae cutaneously. Viable eggs were found in stools 57 days after exposure to infection and were evacuated regularly during the observation time. The necropsy made 118 days after infection revealed 24 males and 10 females of adult *S. mansoni.*

*Grison furax* were infected with unknown number of cercariae. Collective stools examination reveals *S. mansoni* eggs at the 56th day of infection. Elimination of viable eggs was observed to be very regular in those animals.

Necropsy of *Grison furax* specimens were made 57, 74 and 103 days after infection and the following adult worms were recovered: 137 males and 13 females, 182 males and 4 females and 310 males and 16 females respectively.

## BIBLIOGRAFIA

*Ruiz, J. M.* — *Shistosomose experimental.* 1 — Receptividade de *Procyon cancrivorus* à infestação pelo *Schistosoma mansoni, Mem. Inst. Butantan,* 24 (2): 111-113, 1952.

# A NEW GENUS AND SPECIES OF *BOINAE* FROM BRAZIL. *XENOBOA CROPANII*, GEN. NOV., SP. NOV.

A. R. HOGE

*(Department of Ophiology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil)*

## *Xenoboa*, gen. nov.

Genotype: *Xenoboa cropanii*, sp. nov.

This new genus is characterized by having the anterior teeth strongly enlarged; labials and rostral with deep pits; tail short, prehensil; dorsal scales very large and smooth; hemipenis with papillous apex.

*Xenoboa* is related to *Boa* L. and *Epicrates* Wagler but differs from *Epicrates* by the type of dentition and the deep pits, and from *Boa* by the very large scales and shorter tail.

## *Xenoboa cropanii*, gen. nov., sp. nov. (*)

*Holotype* — A ♂ n.º 15.200 in the Butantan Institute collection.

*Type locality* — Miracatu, State of São Paulo, Brazil.

Collected by Mr. José Santos.

Body stout, a little compressed laterally, tail short prehensil; head distinct from neck, covered with shields; rostral with a pit on each side; supraoculars a little enlarged; supralabials 14-13 with deep pits; a large preocular, eye surrounded by 9 scales; ventrals 179; dorsals in 30 series at midbody; anal single; caudals 1+3/3+48; body+head 1113 mm.; tail 167 mm.; head 54 mm..

Body olive-green with rhomboidal dorsal blotches (Fig. 4) and a series of irregular spots on the sides (Fig. 4).

---

(*) Dedicated to the late Ottorino de Fiori, Baron de Cropani, director of the Instituto Vulcanológico at Catania.

Received for publication on April 27, 1953.

Belly yellow, anterior part with small black edges on each ventral. The black edges increasing in size tailwards (Fig. 5).

Hemipenis with plicae, papilous at the apex. "sulcus spermaticus" forked.

Skull — nasals thrice as long as broad; prefrontal broader than long; postfrontal not in contact with frontal, which is broader than long; mandibular with 15 teeth, anterior strongly enlarged; palatine without processus and with 5 teeth; pterigoid with 5 teeth.

The skull is much shorter and broader than in *Boa or Epicrates.*

## RESUMO

Descrição de um gênero novo e espécie nova, *Xenoboa cropanii*. O novo gênero *Xenoboa* é caracterizado por ter os dentes anteriores muito aumentados; labiais e rostral com fossetas profundas, cauda curta e preensil; escamas dorsais lisas e grandes; hemipenis com plicas e apex com papilas.

*Xenoboa* é próxima de *Boa* L. e *Epicrates* Wagler porém se distingue de *Epicrates* pelo tipo de dentição, e fossetas labiais; e de *Boa* pelas escamas muito aumentadas, e cauda mais curta.

*Xenoboa cropanii* tem cabeça distinta do pescoço; 14-13 supralabiais; ôlho circundado por 9 escamas; 179 ventrais; dorsais em 30 séries no meio do corpo; anal simples; caudais 1+3/3+48; corpo mais cabeça 1113 mm.: cauda 167 mm.; cabeça 54 mm.

Coloração verde oliva com manchas romboidais nas costas; ventre amarelo e as placas ventrais orladas de preto, sendo que a orla preta aumenta gradualmente em largura na direção da cauda.

## BIBLIOGRAPHY

*Linnaeus, C.* — *Systema naturae*, 10 ed. 1: 214, 1758. Holmiae.

*Wagler, J. G.* — *Natürliches system der Amphibien*, München: 167, 1830.

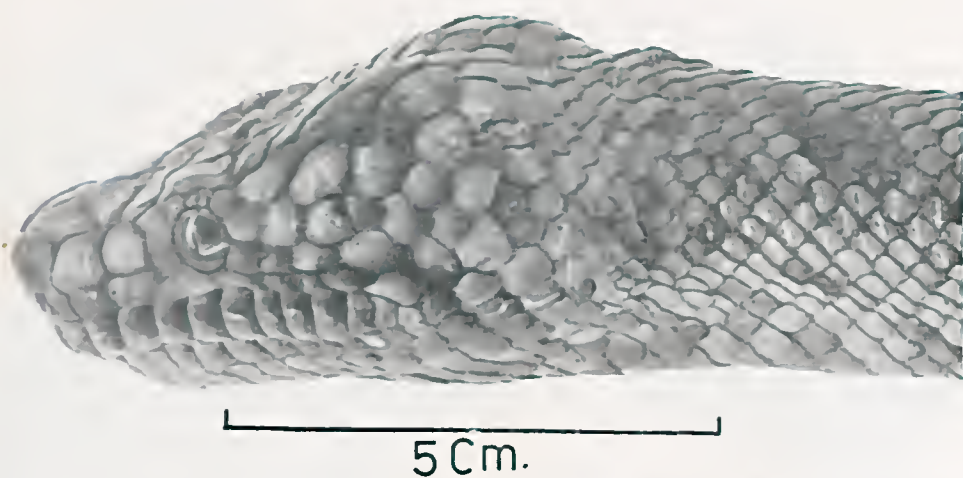



Fig. 1 — Lateral view of the head of *Xenoboa cropanii*, sp. nov.

5 Cm.

5 Cm.

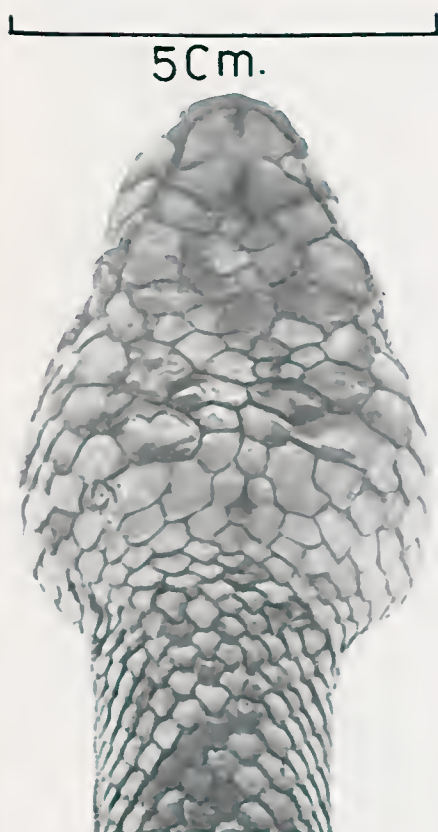



Fig. 2

Dorsal view of the head of *Xenoboa cropanii*, sp. nov.

Fig. 3

Ventral view of the head of *Xenoboa cropanii*, sp. nov.

Fig. 4

*Xenoboa cropanii*, sp. nov., dorsal view.

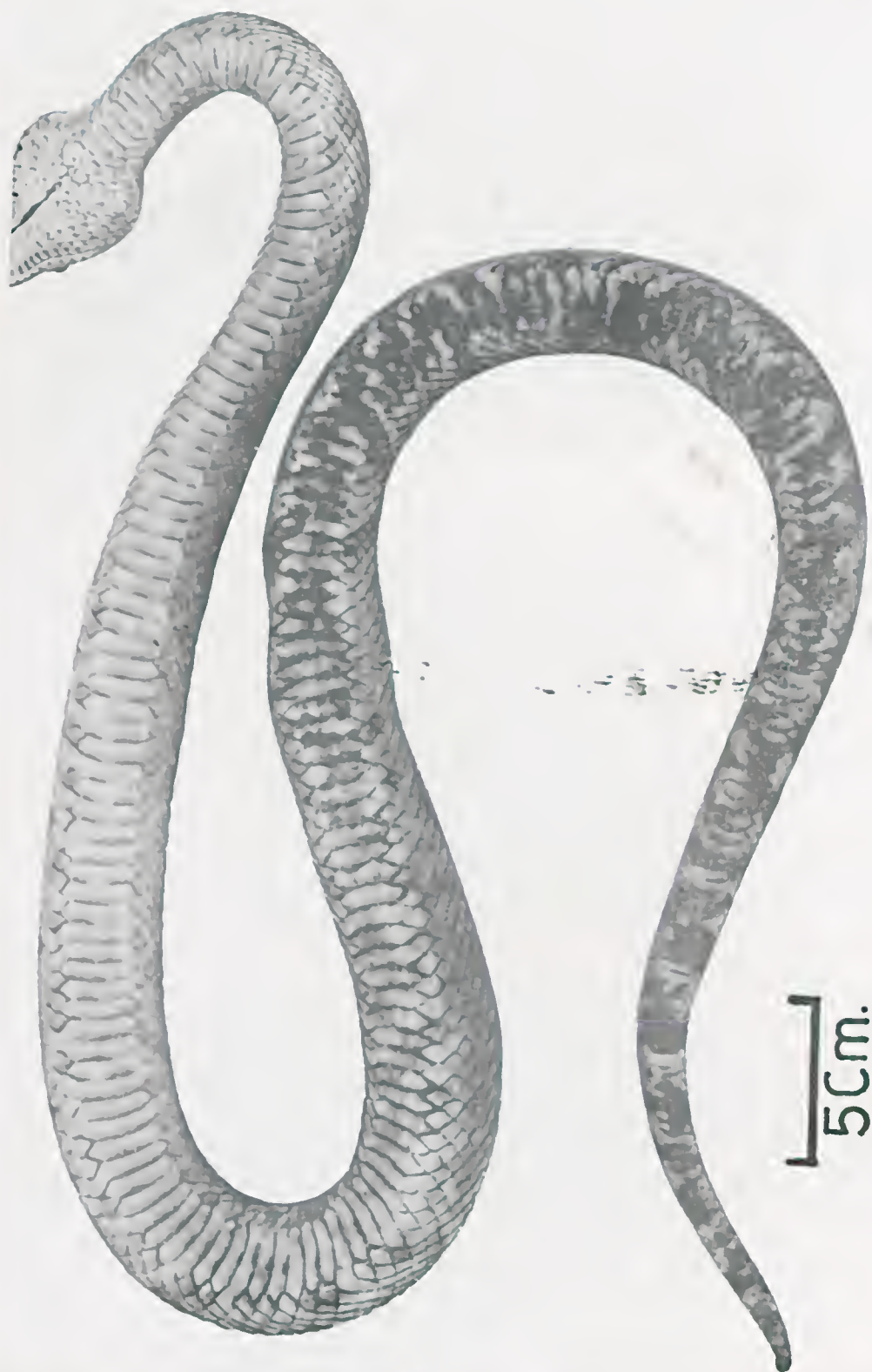
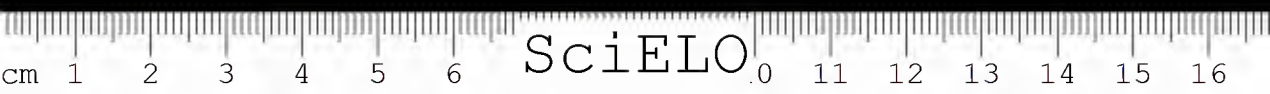
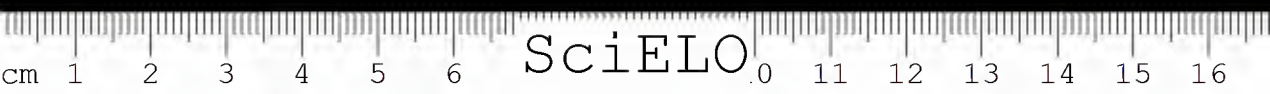



Fig. 5

*Xenoboa cropanii*, sp. nov., ventral view.

# THE ENZYMATIC ACTIVITY OF SPIDER VENOM

*On the influence of sulfonated polysaccharides on the proteolytic and hyaluronic acid splitting activity of spider venom*

E. KAISER

*(Department of Biochemistry, University of Vienna, Austria)*

In a previous communication we discussed the proteolytic activity of the venom of *Lycosa raptoria* and *Ctenus nigriventer*. When casein is employed as substrate the pH optima of the proteolytic enzyme are pH 7.5 and pH 8.0 for the venom of *Lycosa raptoria* and *Ctenus nigriventer* respectively. Calculation of the proteolytic activity in respect to crystalline trypsin (Armour) gives an amount of 3 — 4 crystalline trypsin for one milligramm of the venom (Kaiser, 13, 14). The negative results of other authors which were not able to detect proteolytic enzymes in spider venom (Vellard, 21, 22) may be caused by their method employed whose accuracy is not enough to detect minimal amounts of proteolysis.

Different authors have investigated the inhibiting action of heparin, a negatively charged macromolecule, on tryptic proteolysis. Glazko and Ferguson (9) and Horwitt (10, 11, 12) showed that trypsin's activity is inhibited by heparin employing casein as substrate. Concentrations between 500 and 600 U. heparin are still active. Later Rocha e Silva and Andrade (19) and Wells et al. (23) demonstrated that crystalline trypsin is inhibited by heparin and that commercial trypsin preparations were not influenced. We have taken up this question again in this laboratory and demonstrated that heparin (liquemin Roche, heparin Vitrum) in concentrations from 62.5 — 1200? were without any influence on tryptic proteolysis. The employed crystalline trypsin and commercial trypsin preparations. Casein, fibrinogen, fibrin and gelatine served as substrates (14).

In this communication we will discuss the influence of heparin and sulfonated peptic acid on the proteolytic activity of spider venoms. Casein was employed as substrate.

Received for publication, on May 12, 1953.

## METHODS

The proteolytic activity was determined according to the method of Kunitz (15), modified in this laboratory (Pantlitschko, Kaiser and Andres, 18). This method is based on measuring the ultraviolet absorption of tyrosin and tryptophan freed by proteolytic enzymes from the substrate. There is a simple, linear correlation between extinction and enzyme concentration which makes it possible to calculate enzyme concentration and the inhibition of the enzymatic process.

The venoms of *Lycosa raptoria* and *Ctenus nigriventer* were tested. As inhibitory substances heparin (liquemin Roche, heparin Vitrum) and different preparations of sulfonated peptic acid were investigated. The average molecular weight of the sulfonated ranged from 20.000 — 90.000. Heparin (62,5 — 1200) nor sulfonated peptic acid (100 — 2000) showed any inhibitory action on the proteolytic of spider venom. The proteinase of spider venom behaves in this respect like crystalline trypsin from beef pancreas.

## RESULTS

Besides the described proteolytic enzyme in spider venom, we were able to detect a considerable amount of an enzyme splitting hyaluronic acid (arachnomucinase). The occurrence of this hyaluronic acid splitting enzyme (hyaluronidase) in animal organs and different bacterial strains is well known Meyer (16), Gibian (8). Also the venom of insects and of different snakes contains different amunts of hyaluronidase, a fact pointed out by different authors. (Duran — Reynals (3,4), Tabarini — Castellani (20), Eichbaum (5), Zeller (25), Werle et al. (24), Chain and Duthrie (1), Farilli (6), de Marco (2,), etc.).

We were able to show in this laboratory that strongly negative charged chain molecules (sulphuric esters of polysaccharides) are potent inhibitors of hyaluronidase in relatively small concentrations. Negatively charged spheric molecules are without any effect. Positively charged macromolecules (histone, protamine, peptone) are activators of the breakdown of hyaluronic acid by hyaluronidase (Pantlischko, Kaiser) (17).

We have investigated the action of negatively charged chain molecules on the activity of arachnomucinase. The activity was determined according to the method described in this laboratory (17). Heparin and sulfonated hyaluronic acid were investigated. Table 1 shows the results with heparin. Heparin is active up to a concentration of $5^{10-5}$ A concentration of $2{,}5^{10-4}$ gives a complete inhibition of arachnomunicinase. Between concentrations of $4^{10-3}$ and $2{,}5^{10-4}$ there exists a nearly linear correlation between the inhibition of arachnomucinase's activity and the concentration of heparin. The same results

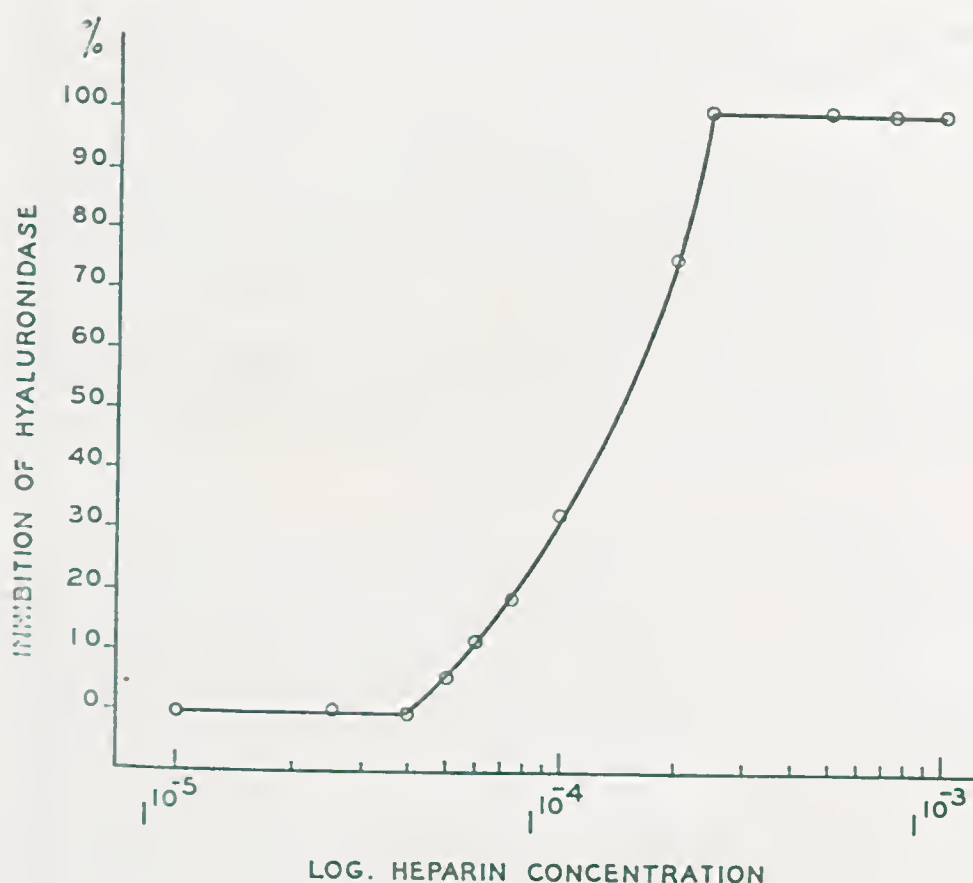



TABLE I

Inhibition of arachnomucinase by different concentrations of heparin
(Method: Pantlitschko, Kaiser, 1951).

could be found with sulfonated hyaluronic acid. Testicular hyaluronidase is inhibited by similar concentrations. Basic substances like histone, protamine and peptone are activators of the arachnomucinase. It seems that at least in this respect there exists no difference between testicular hyaluronidase and arachnomucinase.

## SUMMARY

There is no influence of sulfonated polysaccharides (heparin, sulfonated pectic acid) on the proteolytic activity of spider venom. The enzyme from spider venom splitting hyaluronic acid (arachnomucinase) is inhibited by heparin and sulfonated hyaluronic acid up to very small concentrations.

There seems to exist, at least in this respect, no difference between the proteolytic enzyme of spider venom and crystalline trypsin on the one hand

and between testicular hyaluronidase and the arachnomucinase detected in spider venom.

## ZUSAMMENFASSUNG

Sulfurierte Polysaccharide (Heparin, sulfurierte Pektinsäuse) üben keinen Eifluss auf das proteolytische Ferment der Spinnengifte aus. Das Hyaluronsäure spaltende Ferment der Spinnengifte (Arachnomucinase) wird durch Heparin und sulfurierte Hyaluronsäure noch in sehs kleinen Konzentrationem gehemmt.

Es scheint, zumindest in dieser Hinsicht, kein Unterschied zwischen dem proteolytischen Ferment des Spinnengiftes und kristallisiertem Trypsin einerseits und der Arachnomucinase und Hodenhyaluronidase andererseits zu bestehen.

## RESUMO

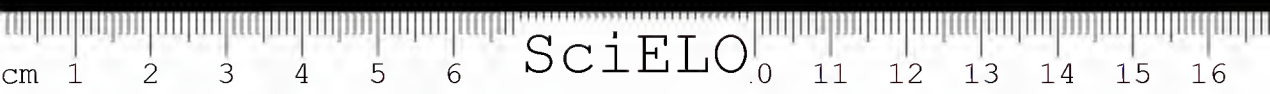
Os polisacárides sulfonados (heparina, ácido peptico sulfonado) não têm ação sobre o efeito proteolítico do veneno de aranha. O enzima do veneno de aranha que cinde o ácido hialurônico (aracnomucinase), é inibido por pequenas quantidades de heparina e ácido hialurônico sulfonado. Sob êsse aspecto, parece não existir diferença, de um lado entre o enzima proteolitico de veneno de aranha e a tripsina cristalina, e por outro lado, entre a hialuronidase testicular e a aracnomucinase encontrada no veneno de aranha.

*Acknowledgment* — Our thanks are due to Prof. Dorival da Fonseca Ribeiro (Butantan Institute, São Paulo) for the necessary amounts of spider venom and to Mr. Winkler (Turon A. G., Frankfurt/Main, Deutschland) for the different preparations of sulfonated pectic acid. Crystalline trypsin was kindly supplied by the Armour Laboratories.

## LITERATURE

1. *Chain, E. & Duthier, E. S. — Brit. J. Exper. Path.* **21**: 324, 1940.
2. *DeMarco, R. — Arch. Sci. Biol.* **27**: 446, 1941.
3. *Duran-Reynals, F. — Science* **83**: 286, 1936.
4. *Duran-Reynals, F. — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **38**: 763, 1938.
5. *Eichbaum, F. W. — Mem Inst. Butantan* **20**: 95, 1947.
6. *Favilli, G. — Nature* **145**: 866, 1940.
7. *Favilli, G. — Fenomeni di diffusione nei tessuti, nel loro aspetto fisiologico e patologico (Torino)*: 86, 1941.
8. *Gibian, H. — Zeit. Angew. Chemie* **63**: 105, 1951.
9. *Glazko, A. J. & Ferguson, J. H. — Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **45**: 43, 1940.
10. *Hewitt, M. K. — Science* **92**: 89, 1940.

11. *Horwitt, M. K.* — *Amer. J. Physiol.* **129**: 385, 1940.
12. *Horwitt, M. K.* — *J. Biol. Chem.* **156**: 427, 1944.
13. *Kaiser, E.* — *Monatschefte f. Chemie (Wien) in press*, 1953.
14. *Kaiser, E. & Pantlitschko, M.* — 1953.
15. *Kunitz, M.* — *J. Gen. Physiol.* **30**: 291, 1947.
16. *Meyer, K.* — *Physiol. Rev.* **30**: 291, 1947.
17. *Pantlitschko, M. & Kaiser, E.* — *Biochem. Zeit.* **322**: 137, 1951.
18. *Pantlitschko, M.; Kaiser, E. & Andres, H.* — *Biochem. Zeit.* **322**: 526, 1951.
19. *Rocha e Silva, M. & Andrade, S. C.* — *Science* **102**: 670, 1945.
20. *Tabarini-Castellani, G.* — *Arch. Ital. Med. Sper.* **2**: 969, 1938.
21. *Vellard, J.* — *Le Venin des Araignées, Paris*, 1936.
22. *Vellard, J.* — *Los Animales Venenosos. Lima*, 1947.
23. *Wells, J. A.; Dragstedt, C. A.; Cooper, J. A. & Morris, H. C.* — *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.* **58**: 57, 1945.
24. *Werle, E.; Turtur, F. & Bauereis, R.* — *Biochem. Zeit.* **319**: 337, 1940.
25. *Zeller, E. A.* — *Advances on Enzymology* **8**: 459, 1948.

Mem. Inst. Butantan
25(1):41-52, 1953



# STUDIES ON COMPARATIVE HEMATOLOGY — I. HEMATOLOGIC *DATA OF MYRMECOPHAGA T. TRIDACTYLA* L., 1758 (TAMANDUÁ-BANDEIRA) AND *TAMANDUA T. TETRADACTYLA* L., 1758 (TAMANDUÁ-MIRIM) (*)

G. ROSENFELD & LAELIA HOEHNE (**)

*(Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil)*

By the study of some endemies, human epidemies and epizooties, we are frequently stroken by the scarcety of hematologic data, that would permit the interpretation of blood modifications in wild animals, either in those inoculated in laboratory or in those find in their natural conditions. On the other hand the knowledge of hematologic data of animals from the various points of the zoological scale, will probably facilitate or permit investigations about the physiology and physiopathology of many mechanisms like that of coagulation, phagocytosis, cytogenesis etc. that are till now obscures. These mechanisms will be perhaps more easily cleared when studied in some animals that for some peculiarity, demonstrate new facts or facilitate some experiences. As an example, the fact observed by Svihla and col. (9-10) in the squirrel and the hamster; when these animals hibernate, there is an extraordinary prolongation of the blood clotting time. This fact would permit the study of the mechanism of the thrombosis and endogenous anticoagulants, of great importance for the human physiology and physiopathology. With the deal to report the hematologic data of several animals it was done a study of the blood of ant-eaters occasionally sent to the Instituto Butantan.

6 specimens of *Myrmecophaga tridactyla tridactyla* L., 1758 (Tamanduá-Bandeira) coming, 5 from the State of Mato Grosso and 1 from the State

(*) This study was supported by the Conselho Nacional de Pesquizas.
(**) Contracted with funds of the Conselho Nacional de Pesquizas.
*Recebido para publicação em 5 de junho de 1953.*
*Received for publication on July 5, 1953.*

MATERIAL AND METHODS

of S Paulo were examined. It was also examined 1 *Tamandua tetradactyla tetradactyla* L., 1758 (T. Mirim) coming from the State of Mato Grosso.

The blood for dosings and hematimetric determinations was taken from the cubital vein and heparinized with 1 mg/ml of blood. The specific counts of leucocytes, mean erythorocytic diameter and morphologic aspect were measured in venous blood smears.

It was considered the average of 2 counts of erythrocytes done in 1/5 $mm^2$, the dosing of hemoglobin was done in electrophotometer with green filter (525μ), the corpuscular volume was determined in Wintrobe's hematocrit centrifuged at 4.000 rpm during 20 minutes. Erythrocytes sedimentation rate was determined in Wintrobe's tube with heparinized blood and the reading was done after 60 minutes. All these determinations were done in duplicate. The reticulocytes were counted in smears by the brilliant cresil blue method. 1.000 erythrocytes were counted for each animal. The mean diameter was measured in 200 erythrocytes, for each animal. The differential count was done in 100 cells in smears stained by Rosenfeld's method (8).

The mean values were determined, beeing $s$ the standard error of individual values and $s_{\bar{x}}$ the standard deviation of the mean. Here are also included the variation coefficients $C$ and $C_{\bar{x}}$ respectivelly from the individual values and from the mean.

RESULTS

*Erythrocytes* — The mean number of erythrocytes was of 3.150.000 per $mm^3$. Individual variations were small. The hemoglobin average was 13.28 gr % and varied mostly only in one animal (6227) that was infested with Nematodes in the stomach and Acantocephala in the intestine. Consequently the mean corpuscular concentration of hemoglobin in that animal was 23,6γγ, while in the others varied from 41.0 to 55.5γγ. That animal therefore presented a hipocromia but had no microcytosis, considering the volume or the mean diameter. Other numeric data about the erythrocytes can be observed in table 1. The erythrocytes were circular and biconcaves, presenting no polichromasy, anisocytosis or poiquilocytosis.

*Leucocytes* — The mean number of leucocytes was 4.980 per $mm^3$, being lower only in one animal (6245) that was suckling a young (6245A). With exception or nr. 6265, all presented a great number of stabform neutrophiles, in spite of presenting no appearent infection. The number of eosinophils was

high in some animals, both in the infected by intestinal parasites as in those where the parasites were not found (Table 2).

The morphologic aspect of the leucocytes presented some special characteristics. The neutrophile granulations were very fine and scarcely visibles (fig. 1, 2, 3, 4) and these from the eosinophiles (fig. 5) were not as well individualized as they are in other mammals because they exist in a great number and become superposed. In the smashed cells (fig. 13) they are evident.

*Lymphocytes, monocytes and blood platelets* — The lymphocytes and monocytes presented sometimes azurophile granulations. The platelets had hyalomere and chromomere well visible but the last was very thin (fig. 12).

In a general way the morphologic aspect was not very different from the most part of the other mammals, calling attention, at first sight, the larger diameter of the erythrocytes, the almost absence of granulations in the nuetrophiles and the small evidence of granulations in eosinophiles.

## DISCUSSION

There are scarce and isolated data about blood elements of the *Myrmecophagidae*, but it was impossible to find a general hematologic picture. Gulliver (2) in an extense table of mean erythrocytic diameters from vertebrates, indicates for *Myrmecophaga jubata* (*M.t. tridactyla*) the value of 1/2769 inch (9.173μ). He does not refer how many animals were used or the number of cells measured. However he informs that he measured a large number of erythrocytes in dry and thin smears. Peters (7) measuring 100 erythrocytes in a not specified number of animals found a mean diameter of 9.3μ with a standard deviation of 0.67. Our data agree with those of these authors as we found a mean diameter of 9.398μ with a standard error of 0.322 (Table 1 and graphs 1, 2, and 3).

In respect to the mean corpuscular volume Knoll (4) found 133-135$\mu^3$ but has inferred the volume from the erythrocytic shape, considering the cell as a cylinder and using as elements only the diameter and the height. As the cell has not that geometric form we understand that his measures are very different from our findings, that were 160.7$\mu^3$. This value we found in 5 animals with methods utilised actually in hematologic routine, that is, considering the globular volume, hematocrit and the number of erythrocytes that occupy that volume. This method avoids errors introduced with individual measures of few elements.

Knoll refers in another work (3) that he found in *Myrmecophagus tridactylus* and in *Tamandua jubata* 4-8% of normoblasts in smears of the circulating blood. These results disagree with our findings. In 6 specimens of *M. tridactyla tridactyla* we found no normoblast in the smears of the peripheral

blood except rare ones in nr. 6227 and only 37 per mm$^3$ in a specimen of *T. tetradactyla* that was in very bad conditions of health and died some hours after the blood was taken. We attribute that finding of Knoll to the possibility that he worked with animals that were not in good conditions and probably had anemia. The ontogenic inductions done by the author about the great number of normoblasts found in the animal circulation are therefore injustifiable. It is also possible that he confounded the small lymphocytes with erythroblasts, because these cells some times resemble erythroblasts (fig. 9, 10) although the difference does not present great difficulty (fig. 11). Knoll (3) refers that he studied one specimen of *Myrmecophagus tridactylus* and two *Tamandua jubata,* however, these two denominations are probably referent to a single species for *Tamandua jubata,* is probably *Myrmecophaga jubata* L., 1766, that is in the synonymy of *Myrmecophaga tridactyla tridactyla* L., 1758 (1-11).

About the percentages of leucocytes and their morphology Knoll (3) refers results found in 1 specimen of *M. tridactyla* and 2 of *Tamandua jubata.* Oria (5-6) presents results from 2 specimens of *T. tetradactyla.* There is no reference to the global count of leucocytes and differential count of neutrophiles. There is no divergence between these data and those found by us, because in so few animals it naturally occurs variations of the types of leucocytes and in respect to the morphology we only accentuate that the neutrophiles present very fine and little visible granulations and the eosinophiles have granulations not so individualized as in the man.

## SUMMARY

Hematimetric data of 6 specimens of *Myrmecophaga tridactyla tridactyla* L., 1758 (Tamanduá bandeira) and 1 specimen of *Tamandua tetradactyla tetradactyla* L., 1758 (Tamanduá mirim) were studied. The mean values found were: 3.150.000 erythrocytes, per mm$^3$, with a concentration of 43,12$\gamma\gamma$ of hemoglobin, a mean corpuscular volume of $160.6\mu^3$ and a diameter of $9.398\mu$. The erythrocytes are discoidal and biconcaves and their dimensions are great when compared with these from other mammals. The number of reticulocytes was 0.747 % and that of leucocytes 4.980 per mm$^3$. Differential counts of leucocytes were done. The neutrophiles presented very thin granulations, and these of the eosinophiles were not very evident, because they exist in a great number and become superposed.

## RESUMO

Foram estudados dados hematimétricos de 6 exemplares de *Myrmecophaga tridactyla tridactyla* L., 1758 Tamanduá bandeira) e 1 do *Tamandua tetra-*

*dactyla tetradactyla* L., 1758 (Tamanduá mirim). A média de hemácias foi de 3.150.000 por mm³ com uma concentração de 43,12γγ de hemoglobina, volume médio de 160,6μ³ e diâmetro médio de 9,398μ. As hemácias que são discóides e bicôncavas apresentam portanto dimensões grandes para mamíferos. O número de reticulocitos era de 0.747% e o de leucocitos 4.980 por mm³. Foram feitas contagens diferenciais dos leucocitos, os neutrofilos apresentavam granulações muito finas e as dos eosinofilos não eram muito evidentes por ficarem empilhadas devido ao seu elevado número.

We are indebt to Prof. Flavio da Fonseca who made available the animals, and for the results of parasitologic examinations done at the necroscopy.

## BIBLIOGRAPHY


1. *Brehms, A.* — Brehms Tierleben. Die Saugetiere, 1 Band: 527, 1912. Bibliographisches Institut Leipzig und Wien, 1 Band, pp. 527, 1912.
2. *Gulliver, G.* — On the red corpuscles of the blood of vertebrata, and on the zoological import of the nucleus, with plans of their structure form and size (on a uniform scale) in many of the different orders, *Proc. Zool. Soc. of London*: 91, 1862.
3. *Knoll, W.* — Das morphologische Blutbild der Säugetiere. I. Allgemeine und spezielle Morphologie der Kernhaltigen Blutzellen der Säugetiere, *Jahrb. Morph. u. Mikrosk. Anat. Abt. II. Zeitschr. Mikrosk. Anat. Forsch.* 30: 116, 1932.
4. *Knoll, W.* — Untersuchungen über die Morphologie des Säugetierblutes, *Folia Haematol.* 47: 201, 1932.
5. *Oria, J.* — Sobre os monocitos do sangue circulante nos *Xenarthra*, *Rev. Med. S. Paulo*, 13: 19, 1928.
6. *Oria, J.* — Sobre os elementos figurados no sangue circulante na preguiça, no tatú e no tamanduá. Tese inaugural, Faculdade de Medicina da Universidade de S. Paulo, Brasil, 1928.
7. *Peters, N.* — Das morphologische Blutbild der Säugetiere. II. Über die Grössenverhältnisse der Erythrocyten der Säugetiere, in *Jahrb. f. Morph. u. Mikrosk, Anat. Abt. II. Zeitschr. Mikrosk. Anat. Forsch.* 30: 151, 1932.
8. *Rosenfeld, G.* — Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido, *Mem. Inst. Butantan*, 20: 329, 1947.
9. *Svihla, A.; Bowman, H. & Pearson, R.* — Prolongation of blood clotting time in the dormant hamster, *Science*, 115: 272, 1952.
10. *Svihla, A.; Bowman, H. & Ritenour, R.* — Prolongation of clotting time in dormant estivating mammals, *Science*, 114: 298, 1951.
11. *Trouessart, E. L.* — Catalogus Mammalium tam viventium quam fossilium, R.Friedländer & Sohn, Berolini, Suppl. pp. 803, 1898-1905.

TABLE 1

*Myrmecophaga tridactyla tridactyla* L., 1758

RED BLOOD CELLS

| Animal Nr. | Red blood cells x $10^6$/mm³ | Hemoglobin gr % | Mean corpuscular hemoglobin $\gamma\gamma$ | Hematocrit % | Mean corpuscular volume $\mu^3$ | Reticulocytes % | Mean diameter $\mu$ | Red blood cells sedimentation rate mm/60min. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 6227 | 3,3 | 7,8 | 23,6 | 52,2 | 158 | 0,675 | 9,576 | 7,5 |
| 6226 | 3,4 | 16,7 | 49,0 | 55,5 | 162 | 0,657 | 9,050 | 2,25 |
| 6225 | 3,2 | 13,1 | 41,0 | 46,0 | 143 | — | 9,392 | 26,0 |
| 6245 | 2,7 | 15,0 | 55,5 | 50,5 | 187 | 0,778 | 9,707 | 21,75 |
| 6245A | — | — | — | — | — | — | 9,221 | — |
| 6275 | — | — | — | — | — | — | 9,836 | — |
| 6265 | 3,0 | 13,9 | 46,5 | 46,0 | 153 | 0,879 | 9,004 | 29,0 |
| Mean | 3,15 | 13,28 | 43,12 | 50,04 | 160,6 | 0,747 | 9,398 | 17,28 |
| s | 0,28 | 3,33 | 12.09 | 4.10 | 16,37 | 0,1014 | 0,322 | 11,78 |
| C % | 8,8 | 25,0 | 28.0 | 8.2 | 10,12 | 10,3 | 0,34 | 10,06 |
| $s_{\bar{x}}$ | 0,124 | 1,48 | 5.4 | 1.83 | 7,32 | 0,05 | 0,130 | 5,26 |
| $C_{\bar{x}}$ % | 3,9 | 11,1 | 12.5 | 3.6 | 4,55 | 6,7 | 0,0[illegible] | 30,44 |

TABLE 2

*Myrmecophaga tridactyla tridactyla* L., 1758

LEUCOCYTES

| nimal Nr. | Leucocytes x 10³ mm.³ | Differential count % | | | | | | Procedence | Diseases or infestations | Sex | Observations |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Neutrophiles | | Eosinophiles | Basophiles | Lymphocytes | Monocytes | | | | |
| | | Stab | Segmented | | | | | | | | |
| 6227 | 6,25 | 14 | 33 | 19 | 3 | 27 | 4 | Mato Grosso | Nematodes (stomach). Acantocephala (intestine). | Indet. | — |
| 6226 | 7,40 | 14 | 48 | 6 | — | 23 | 9 | Mato Grosso | | ♀ | — |
| 6225 | 4,85 | 16 | 43 | 1 | 1 | 30 | 9 | Mato Grosso | — | ♀ | — |
| 6245 | 2,35 | 25 | 42 | 17 | — | 12 | 4 | Mato Grosso | — | ♀ | Animal was suckling a young. |
| 6245 A | — | 21 | 20 | 1 | — | 51 | 7 | Mato Grosso | — | Indet. | Youngst of the animal above |
| 6275 | — | 32 | 12 | 14 | — | 37 | 5 | Mato Grosso | — | Indet. | — |
| 6265 | 4,25 | 7 | 60 | 2 | — | 27 | 4 | São Paulo | — | Indet. | — |
| Mean | 4,98 | 18,42 | 36,85 | 8,57 | 0,57 | 29,57 | 5,0 | | | | |
| s | 1,947 | 8,26 | 16,5 | 7,89 | 1,13 | 12,10 | 2,3 | | | | |
| C % | 39 | 42,6 | 44,7 | 92,0 | 198 | 40,9 | 38,3 | | | | |
| $s_{\bar{x}}$ | 0,870 | 3,12 | 6,24 | 2,98 | 0,42 | 4,57 | 0,87 | | | | |
| $s_{\bar{x}}$ % | 17,4 | 16,9 | 16,9 | 34,3 | 73,6 | 15,4 | 14,5 | | | | |

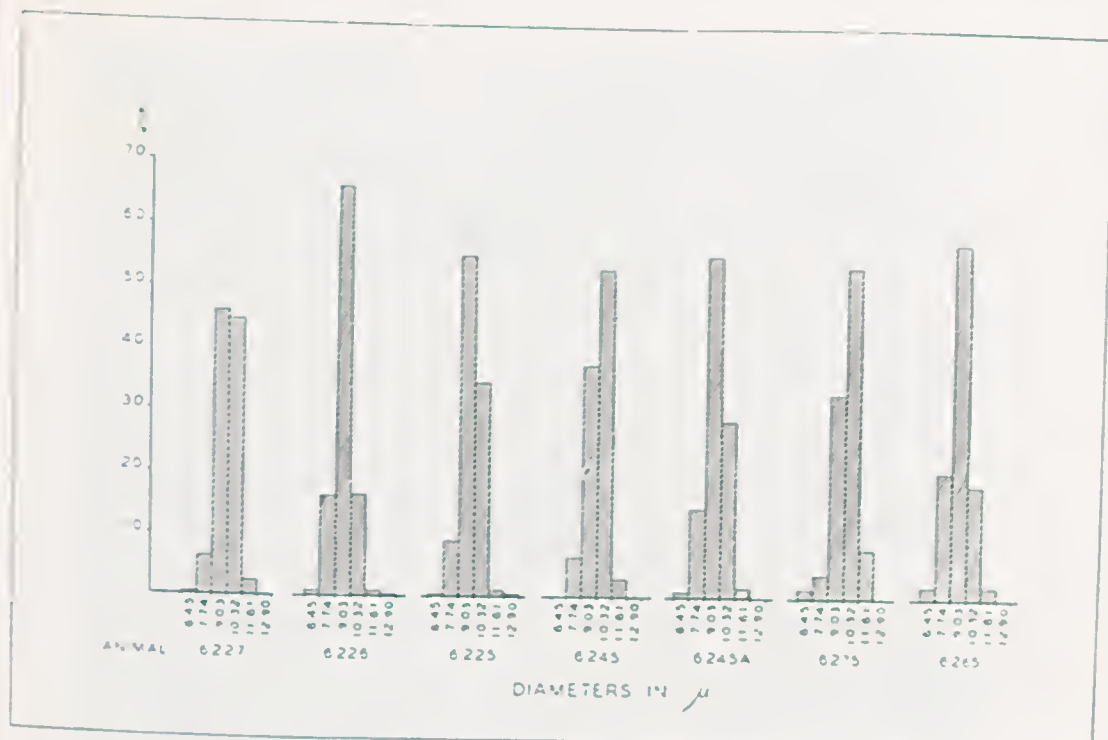
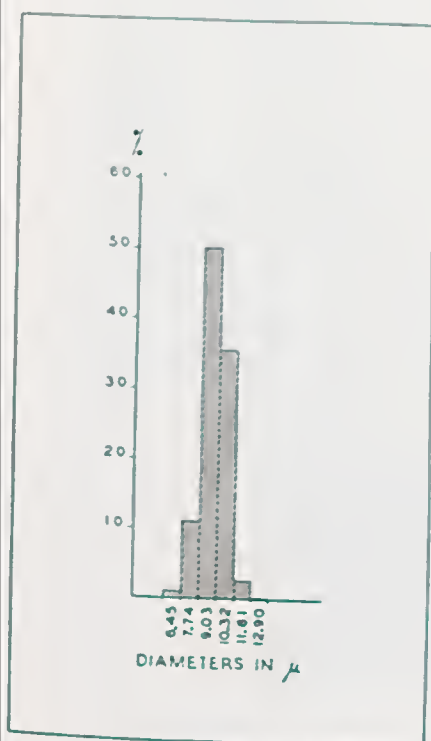
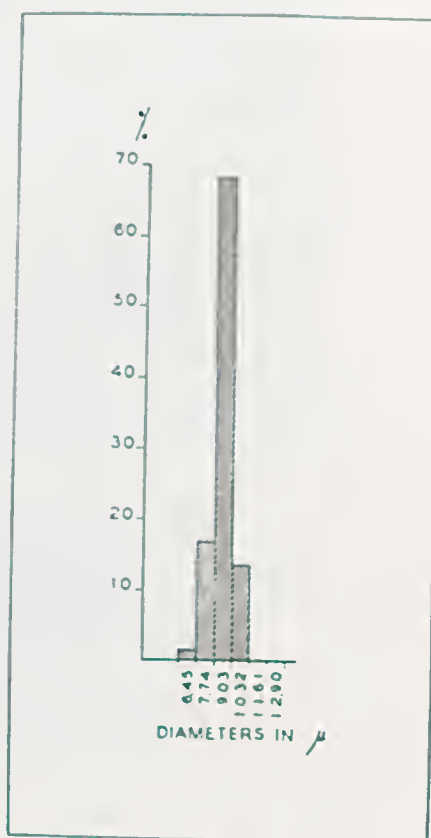
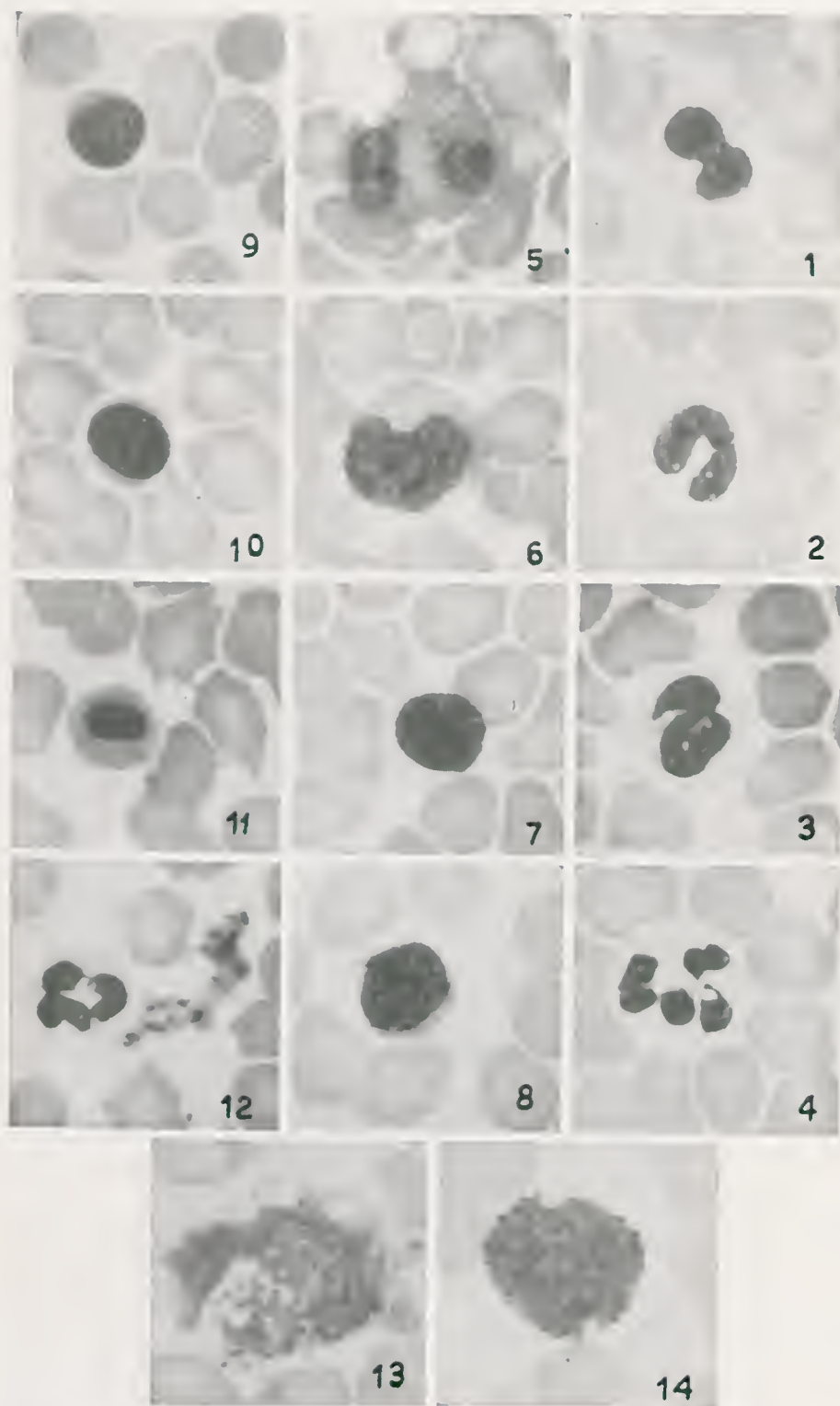
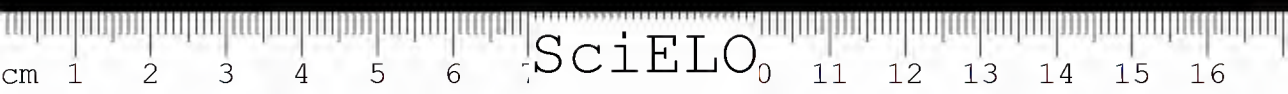
TABLE 3

*Tamandua tetradactyla tetradactyla* L., 1758. Procedence Mato Grosso, sex indetermined, died some hours later.

RED BLOOD CELLS

| Red blood cells x 10⁶mm³ | Hemoglobin gr. % | Mean corpusc. hemoglobin γγ | Hematocrit % | Mean corpusc. volume $\mu^3$ | Reticulocytes % | Mean diameter $\mu$ | Red blood cells sedimentation rate mm/60 min. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2,8 | 11,3 | 40,3 | 37,0 | 132 | 0,167 | 8,917 | 20,25 |

LEUCOCYTES

| Leucocytes x 10³/mm³ | Differential count % | | | | | | | Observation |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Neutrophiles | | | Eosinophiles | Basophiles | Lymphocytes | Monocytes | |
| | J | Stab | Segmented | | | | | |
| 3,7 | 1 | 22 | 32 | 3 | — | 39 | 3 | 37 erythroblasts mm³ |

Graph 1 — *Myrmecophaga t. tridactyla.* Mean erythrocyte diameter of 6 animals.

Graph 2 — *Myrmecophaga t. tridctyla.* Mean erythrocyte diameter. Average of 6 animals.

Graph 3 — *Tamandua t. tetrodactyla.* Mean erythrocyte diameter. 1 animal.

Photomicrographs of blood of *Myrmecophaga tridactyla* L., 1758. Rosenfeld stain. X [illegible]
1 — Neutrophile, juvenile; 2 — Neutrophile stab form; 3 — Neutrophile stab form; 4 — Neutrophile, segmented; 5 — Eosinophile; 6 — Monocyte; 7 — Large lymphocyte; 8 — Small lymphocyte; 9 — Small lymphocyte; 10 — Small lymphocyte; 11 — Erythroblast, orthocromatic; 12 — Platelets; 13 — Eosinophile, smashed; 14 — Basophile.

# ESCORPIÕES E ESCORPIONISMO NO BRASIL

## 1. *Manutenção dos escorpiões em viveiros e extração do veneno*

WOLFGANG BUCHERL

(*Laboratório de Animais Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*)

### INTRODUÇÃO

Há mais de trinta anos fabrica o Instituto Butantan um "*sôro anti-escorpiônico*", obtido nos primeiros anos apenas com a peçonha de *Tityus bahiensis* e, mais tarde, pela mistura, em partes aproximadamente iguais, dos venenos de *Tityus bahiensis* e *T. serrulatus*.

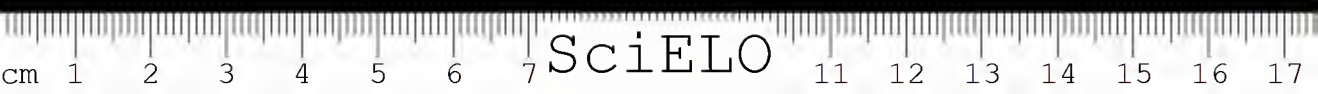
Entre todos os escorpiões do Brasil são estas duas espécies as mais peçonhentas. Existem dados documentados que atestam a enérgica ação da peçonha de *T. bahiensis* e *T. serrulatus*, havendo mesmo casos de morte humana, não sòmente de crianças mas também de pessôas adultas, determinada pela picada de uma das duas espécies.

Nestas circunstâncias veio o fabrico do antidoto especifico pelo Instituto Butantan preencher uma necessidade clínica. Para a obtenção da peçonha escorpiônica separa-se do escorpião vivo ou recem-morto o telson ou último artículo caudal. Um lote dêstes artículos é triturado em gral de vidro para redução a um macerado, o mais miúdo possível. Ajunta-se, então, salina na proporção de 1 cm³ para cada 10 artículos. Agita-se a mistura com bastão de vidro, para extração do princípio tóxico e passa-se, em seguida, à centrifugação. O liquido sobrenadante, fortemente opalescente, contém a peçonha escorpiônica. Adiciona-se glicerina neutra em proporções tais que o liquido venenífero perfaça dois terços e a glicerina um terço. Incuba-se a 37° C, pelo menos durante 15 dias, "para esterilização da mistura e concentração do antígeno...", como disse Vital Brazil Mem. Inst. Butantan 1: 48, 1918.

Para aferição do índice tóxico toma-se a relação do número de glândulas contidas em cada cm³ desta solução glicero-aquosa. A titulação é feita por injeções subcutâneas em cobaios de 400 gramas.

Com a mesma solução imunizam-se cavalos, tendo Vital Brazil principiado com injeções subcutâneas de 0,6 glândulas de *T. bahiensis* (*loc. cit.*). Num

---

Recebido para publicação em 5 de junho de 1953.

período de 2 mêses e 4 dias, praticando-se uma injeção em média cada 4.º dia e subindo-se cada vez com a dose, chegando-se a inocular num cavalo nada menos de 1.512,8 glândulas.

O sôro obtido após sangria do cavalo era titulado em tubos de ensaio 1 cm³ de sôro em cada tubo, mais uma quantidade variável de peçonha escorpiônica, com incubação dos tubos em estufa a 37°C, durante 1 hora e posterior inoculação do conteúdo de cada tubo, por via subcutânea, em cobaios de 400 gramas.

Nesta titulação o sôro obtido revelava-se fraco, neutralizando apenas 4 glândulas por cm³. Após concentração do mesmo, obtinha-se um poder neutralizante de 10 glândulas escorpiônicas por cm³, o que foi julgado satisfatório por Vital Brazil, principalmente após recomendação de que, em caso de acidente humano, se injetassem por via subcutânea ou intramuscular 5 a 20 cm³ deste sôro.

Em anos posteriores passou o Instituto Butantan a fabricar o *sôro anti-escorpiônico polivalente*, capaz de neutralizar a peçonha das duas espécies, *T. bahiensis* e *T. serrulatus*.

Este sôro é apresentado em ampôlas de 5 cm³, capazes de neutralizarem 5 D. l. m. da mistura glicero-aquosa dos venenos das respectivas espécies.

Já Vital Brazil e depois seus sucessores que fabricavam este sôro, estavam cônscios das inconveniências dêste método. Sabiam eles perfeitamente que:

*a*) a relação do número de glândulas em determinado volume de liquido glicero-aquoso, podia não corresponder à realidade pela ocorrência de glândulas sem peçonha;

*b*) a trituração em gral de vidro do telson inteiro e extração com salina fazia entrar em solução substâncias hidro-solúveis estranhas (dos elementos quitinosos das coberturas do telson, dos feixes musculares, dos epitélios glandulares, etc.), que, sendo de natureza protéica, faziam também o papel de verdadeiros antígenos na imunização dos cavalos, a encobrir imunològicamente a verdadeira imunização com a peçonha. Lògicamente os anticorpos do cavalo constavam também, em grande parte, de anticorpos estranhos, etc..;

*c*) o processo de os fornecedores enviarem as glândulas escorpiônicas já dentro da glicerina deu, muitas vezes, origem a remessas de glândulas em adiantado estado de deterioração, com mau cheiro, etc., com alteração da atividade da peçonha;

*d*) nenhuma titulagem, tanto da solução venenífera, como do sôro obtido, podia, a rigor, ser reproduzida experimentalmente, porque a unidade-cobaio tinha que ser titulada, em cada partida, com antígeno cada vez diferente.

Dêstes conhecimentos nasceu a tendência, ensaiada em quase todos os centros de pesquisa que se dedicam à soroterapia anti-escorpiônica, de manterem-se os escorpiões *vivos* e de *extrair-se deles a peçonha em estado mais ou*

*menos puro* a permitir dosagens mais rigorosas, tanto na titulagem da peçonha, como na imunização de cavalos e redosagem dos sôros obtidos.

Entre nós cabe ao dr. Heitor Maurano o mérito de ter sido o primeiro a obter veneno puro de *Tityus bahiensis*, colhido diretamente do ferrão com pipeta capilar e soprado sôbre um vidro de relógio, sêco em seguida na estufa.

Vital Brazil, em 1918, embora reconhecendo ser êste método muito trabalhoso, achou, contudo, que o mesmo deverá ser aplicado nas experiências de precisão e que se deveria tentar, pelo menos, obter veneno puro para a titulagem dos soros.

## HABITAT

O *Tityus serrulatus* (fotografia N.º 1) pode ser considerado um escorpião essencialmente *domiciliar*. É encontrado quase sempre dentro de cidades, vilas e construções humanas, penetrando todos os cômodos das habitações. É raro no campo.

O *Tityus bahiensis*, (fotografia n.º 2), ao contrário, é um escorpião dos campos, das plantações, dos cerrados e das matas ralas. Seu esconderijo predileto são as cavernas naturais dos barrancos, os buracos cavados por outros animais e os cupins, em cuja parte inferior se instala definitivamente. Quando a ocasião fôr propícia, ele penetra também em cidades, ainda que sempre em número menor do que o *T. serrulatus* e instala-se igualmente dentro das moradias humanas.

O *Tityus serrulatus* (fotografias 3-6) existe nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Goiás, principalmente. Sua zona biológica abrange a região limitrofe entre os Estados de São Paulo e Minas. Em São Paulo existe êste escorpião desde Barretos, Pontal, Ribeirão Preto, Mogi Mirim, Amparo, Socorro até as cidades novamente limitrofes com Minas, Roseira, Aparecida, Guaratinguetá, Lorena, Cachoeira, etc., smpre ladeando a fronteira com Minas, com uma penetração entre 30 a 70 quilômetros no Estado.

Em Minas Gerais existe em Cabo Verde, Parreiras, Ouro Fino, Cambuí Itajubá, Porto Farias, Juiz de Fóra e principalmente Belo Horizonte. Tem-se mesmo a impressão de que sua presença, aliás numèricamente muito elevada, em Belo Horizonte, é isolada, pois em redor desta cidade ocorre o *T. bahiensis*.

No Estado do Rio de Janeiro encontra-se o *T. serrulatus* ao longo da Serra da Mantiqueira, do lado oriental, no percurso da Estrada de Ferro Central do Brasil, como Lavrinhas, Queluz e Rezende.

O *Tityus bahiensis* tem uma distribuição geográfica muito mais ampla, desde o Estado da Bahia, na margem direita do rio São Francisco até ao Oceano Atlântico em direção sudoeste pelos Estados de Minas Gerais (Ouro Preto, Passagem de Mariana, Sabará, Belo Horizonte, etc.), Espirito Santo, Rio de Janeiro, inclusive o Distrito Federal e Niteroi.

No Estado de São Paulo é esta espécie encontrada em quase todas as regiões. Embora prefira a vida do campo, habita também muitas cidades, ou porque foi trazido para elas (pelas Estradas de Ferro, pelas encomendas, por estrada de rodagem, com madeiras, tijolos, pedras, areias, etc.), ou ainda porque a cidade veio até ele, isto é, as moradias humanas foram construidas em zonas onde era campo antes.

O Instituto Butantan tem recebido *Tityus bahiensis* das seguintes cidades: Guaratinguetá, Aparecida, Roseira, Pindamonhangaba, Taubaté, Caçapava, Mogi da Cruzes, Santo Angelo, todas localidades servidas pela Central do Brasil. Foi enviado igualmente da ilha de São Sebastião e de Santos.

Na Capital de São Paulo é este escorpião bastante freqüente nas encostas entre Perdizes e Pacaembú, como também entre o Sumaré e o Pacaembuzinho de um lado e Sumaré e Vila Madalena do outro.

Foi encontrado igualmente em quase todas as ruas paralelas à avenida Paulista, do lado oeste, como Alameda Lorena, Tietê, etc. Existe também nos seguintes bairros: Luz, Casa Verde, Sant'Ana, Penha, Jardim Paulista, Pinheiros, Lapa e Vila Pompeia.

Inspeções dêstes locais revelavam sempre a existência ou de terrenos baldios, com acumulação de detritos, pedras, tijolos, madeiras, etc., ou de muros não rebocados, cheios de fendas profundas entre os tijolos ou de cêrcas improvisadas com mourões esburacados ou ainda, como acontece no Pacaembú, altos muros de apoio, feitos de pedras naturais, cujas juntas não foram fechadas. Prédios velhos ,cheios de rachas e defeitos, com porões esburacados, são igualmente um esconderijo ideal para êste escorpião.

Para se ter uma ideia do vasto habitat desta espécie no Estado de São Paulo, citamos mais algumas cidades, das quais o Instituto Butantan já tem recebido o *Tityus bahiensis*: Ribeirão Pires, Santo André, São Bernardo, na Estrada de Ferro Santos-São Paulo; Caieiras, Jundiaí, Campinas, Rio Claro, Graúna, Visc. do Rio Claro, São Carlos, Dobrada, Monte Alto, Viradouro, Pontal, Ribeirão Preto, São Simão, Luiz Antonio, Mocóca, Itobí, Araras, Mogí Mirim, Itapira, Socorro, Amparo, Pedreira, Atibaia e Guarulhos todas cidades localizadas à direita de uma linha reta, traçada entre Santos e Rio Preto.

À esquerda desta linha, na zona servida pela Sorocabana temos as seguintes localidades: Baruerí, Sorocaba, Itú, Salto, Tietê, Piracicaba e João Alfredo, São Pedro, Botucatú, Rubião Jr., Avaré, Itapéva, Nogueira, Cafelândia, Rancharia, Capivarí, Rib. dos Indios e Presidente Epitácio.

MANUTENÇÃO DE ESCORPIÕES EM VIVEIROS:

As duas espécies de escorpiões, *Tityus serrulatus* e *Tityus bahiensis*, podem ser mantidas em viveiros com relativa facilidade.

O viveiro ideal é de madeira, de forma retangular ou quadrada, com fundo de madeira compensado, paredes laterais de madeira ou vidro ou tela fina e tampa superior de tela. Para trezentos escorpiões recomenda-se uma área de pelo menos 60 por 60 cm (comprimento e largura).

O interior dos viveiros deve ser provido de esconderijos, porque os escorpiões preferem o escuro. A maneira mais fácil de instalar-se êstes esconderijos consiste em dobrar-se cartolina preta nas medidas de 20 por 20 cm e com 3 cm de altura, com entrada larga num lado.

Em cada viveiro colocam-se 3-5 dêstes esconderijos. A agua potável é fornecida aos escorpiões em placas de Petri.

Embora fossem os escorpiões capazes de jejuar prolongadamente, mais ou menos uns dois meses, começam êles, contudo, quando falta comida, a agredir-se mùtuamente, servindo-se êles próprios de repasto. Por este motivo é indispensável, quando se quer manter juntos muitos dêstes aracnideos cambais, que exista sempre comida em grande abundância. Embora êles aceitem qualquer pequeno inseto, detestando apenas himenópteros, que rejeitam categòricamente, teem êles, contudo, grande preferência pelas aranhas, particularmente pelos *Licosoideos* (fotografia N.º 7).

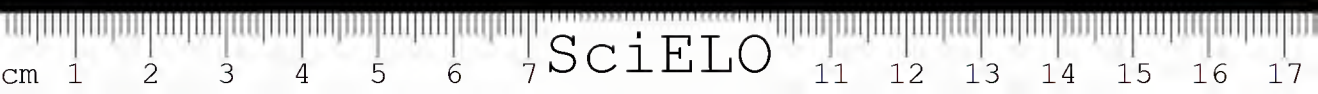
As aranhas caranguejeiras são igualmente aceitas com grande apetite, sendo então o melhor expediente, para evitarem-se brigas fratricidas, picarem-se as aranhas em pedacinhos pequenos, de maneira que cada escorpião possa apoderar-se, pelo menos, de um pedacinho.

Pouca comida para muitos escorpiões incita-os à briga. Dois a quatro agarram a prêsa e a puxam cada um para si. Com os ferrões êles procuram afugentar os outros e como resultado surge uma grande mortandade, sendo os mortos devorados também pelos sobreviventes.

O expediente prático para conseguir-se que os escorpiões aceitem facilmente o alimento consiste em colocar o mesmo sôbre um pedaço de cartolina e enfiá-la por baixo dos esconderijos dentro dos viveiros. Como êles costumam passar o dia justamente por baixo dêstes, estão assim diretamente em contato com a comida, que devoram sem tardança.

Escorpiões sempre bem alimentados são a melhor garantia contra o canibalismo, sendo, pois, perfeitamente possivel, manter centenas juntos, sem a verificação do fratricidio.

A questão muda de figura nos mêses de Dezembro a Abril, periodo em que as fêmeas dão à luz aos filhotes, às vezes em número superior a 20.

Nenhum destes filhotes, quando não se retirar a mãe dos viveiros, conseguirá crescer, pois os outros escorpiões, sem cerimônia alguma, costumam colocar-se ao lado da mãe, sobre cujo dorso repousam os recém-nascidos, e com as mãos agarram um por um dos pequeninos, para comê-los. A própria mãe não faz oposição alguma.

Foram vistas repetidas vêzes diversas fêmeas, às vêzes em número de três, com as costas cheias de filhotes. Como si tivesse havido prévio entendimento mútuo, dispõem-se uma em frente às outras, repassando, óra a mão de uma, ora de outra, sôbre o dorso da companheira, para a retirada de um filhote. O repasto sinistro só tem fim depois do desaparecimento do último recém-nascido.

As cuticulas quitinosas que sobram após a muda de pele são igualmente devoradas. Como a ecdise é invariavelmente realizada durante a noite, só se chega a saber do fato pelo aspecto diferente do tegumento do escorpião. Entre várias centenas de indivíduos, só conseguimos ver umas 2-3 ecdises em vários anos de observação, exceptuando-se os filhotes, criados à parte e que trocam a pele com mais frequência.

Um dos assuntos mais importantes na manutenção de escorpiões em viveiros é naturalmente a *limpeza*. As fezes aderem firmemente ao madeiramento e sempre permanecem restos de alimento, mesmo quando se têm retirado os mesmos cada segundo dia, para evitarem-se maus cheiros.

É necessário, pois, que se recolham todos os escorpiões em grandes placas de vidro, empregando-se pinças compridas e que se proceda cada semana a uma limpeza geral, feita com água e sabão. Esfregam-se todos os cantos, as telas e os vidros; trocam-se, em seguida, os papeis e os esconderijos, substituindo-os por novos, etc. Depois recolocam-se os escorpiões nos viveiros limpos.

Nos meses de frio convêm aquecer levemente a sala.

Para facilitar o alimento, pode-se ralar finamente carne, às vêzes também fígado. Periòdicamente é interessante misturar-se ao alimento levedo em pó, em proporção ínfima.

Com estes cuidados é perfeitamente possível manter-se em laboratórios os escorpiões das duas espécies referidas. A percentagem de mortalidade é relativamente baixa, variando entre 0,3-0,6% diàriamente. É imprescindível inspecionar diàriamente os viveiros, trocar a água potável e retirar os mortos, mesmo porque a presença de cadáveres, além de prejudicar os vivos, os incita ao canibalismo.

*Recebimento de escorpiões pelo Instituto Butantan*: Tem o Instituto feito diversos apelos, desde os anos de 1951, para que os fornecedores enviassem os escorpiões vivos. Entre as pessôas que mais atenderam a estes apêlos, tornando-se, por isso, merecedores dos agradecimentos déste centro de pesquisa, devem ser citados o Dr. Ovidio Unti, chefe do Serviço de Profilaxia da Malária, o dr. Heitor Chiarello, chefe do Pronto Socorro Municipal de Ribeirão Preto, o dr. Tito Lopes da Silva, do Serviço da Profilaxia da Malária, os médicos veterinários da Estação Experimental de Pindamonhangaba, a Prefeitura de Pontal, o sr Wagner, de Passagem de Mariana e a Prefeitura de Ouro Preto.

De todos êstes recebe o Instituto periòdicamente remessas de escorpiões vivos. Os de Ribeirão Preto vieram durante o ano de 1951 com sinais evidentes de intoxicação por Gammexâne, de maneira que, nos primeiros dias, a percentagem de morte foi muito elevada; outras remessas chegavam já com os escorpiões mortos.

Aliás, da grande maioria dos intoxicados, muitos reviveram e se restabeleceram completamente.

1. TABELA DE EXTRADA DOS ESCORPIÕES VIVOS

| Mêses | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ano de 1951 | | | | | | | | | | | | | |
| *T. serrulatus* | 37 | 37 | 64 | 151 | 39 | 22 | 11 | 86 | 16 | 95 | 119 | 101 | 818 |
| *T. bahiensis* | 12 | 26 | 19 | 655 | 262 | 13 | 8 | 56 | 42 | 18 | 32 | 58 | 1201 |
| ano de 1952 | | | | | | | | | | | | | |
| *T. serrulatus* | 8 | 58 | 13 | 40 | 26 | 17 | 47 | 79 | 45 | 68 | 81 | 23 | 505 |
| *T. bahiensis* | 21 | 12 | 141 | 66 | 28 | 60 | 37 | 51 | 57 | 45 | 59 | 9 | 586 |
| ano de 1953 | | | | | | | | | | | | | |
| *T. serrulatus* | 10 | 10 | 57 | | | | | | | | | | 77 |
| *T. bahiensis* | | | 35 | 1220 | | | | | | | | | 1269 |

Embora tivesse sido recomendado minuciosamente que os fornecedores acondicionassem os escorpiões com cascas de árvore umedecidas, e êstes obedecessem rigorosamente, continúa, contudo, a percentagem de mortalidade, durante o trajeto para o Instituto, bastante elevada: em tôrno de 30%.

Nas primeiras duas semanas de acomodação aos viveiros e de recuperação da vitalidade há ainda a assinalar uma percentagem relativamente alta de mortalidade, entre 8 a 10% do total.

*Extração do veneno:*

1. *Método de captura dos escorpiões para extração:* Para que se possa extrair o veneno, em estado puro, sem prejudicar sèriamente o escorpião e com relativa segurança para o extrator, temos encontrado o seguinte método, que, após dois anos e meio de trabalho, consideramos o mais vantajoso e prático (Fotografia N.º 8).

Recolhem-se dos viveiros os escorpiões da mesma espécie, em lotes de 100 cada vez, e se coloca em grandes placas de vidro, cujos bordos têm pelo menos 12 a 15 cm de altura. Com pinça levemente denteada e com ponta recurva pega-se, então, um escorpião. A posição dêste deve corresponder ao ângulo de flexão da ponta da pinça, de maneira tal que uma haste da mesma venha

a cair exatamente sobre o lado dorsal do fim do penúltimo artículo caudal e a haste ventral no lado ventral do mesmo artículo. Levanta-se, então, o escorpião com a mão direita (a mão da pinça) e introduz-se o polegar e o indicador da mão esquerda sôbre a cauda — o polegar sobre o lado dorsal e o indicador sôbre o lado ventral da mesma. Com movimento rápido deixam-se escorrer os dois dedos em direção à pinça, isto é, ao penúltimo artículo, segurando-se, em seguida, firmemente justamente na dobradura da vesícula (ou telson). Êste ato deve ser feito de modo que a unha do polegar repouse diretamente sôbre o lado superior e a falangeta do indicador no lado oposto.

Como o escorpião não pode dobrar o telson para baixo, não há perigo algum de uma eventual picada na falangeta do indicador. O ferrão entretanto, é dobrado para cima com incrível rapidez e a picada seria infalível, si não a protegesse, a unha do polegar, impenetrável para o ferrão escorpiônico. Por êste mesmo motivo deve-se curvar bem o polegar sobre a cauda, de maneira que entre o artículo caudal e a unha não haja espaço além de um milímetro, sob pena de o escorpião, ao dobrar o telson para cima, atingir o polegar justamente debaixo da unha e encravar aí o ferrão.

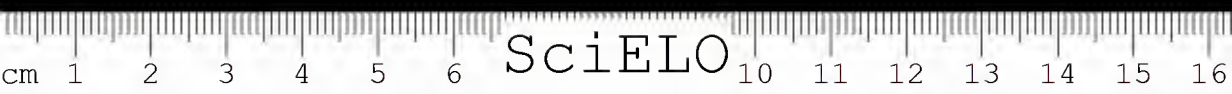
Estando os dois dedos nesta posição, que, após algum exercício, é adotada automàticamente, pode-se retirar de todo a pinça. Naturalmente forceja o aracnídeo atitudes de defesa, dobrando, por diversas vêzes o ferrão para cima. A cada movimento surgem, perto da ponta do ferrão, os dois opérculos, onde terminam os canais eferentes, uma a duas pequenas gotículas de veneno, recolhidas num pequeno vidro de relógio.

Durante a extração repousa o escorpião na palma da mão, levemente seguro com os restantes três dedos. Ele não fica de todo inativo, mas procura agarrar a pele do extrator. Enèrgicamente êle fecha suas pinças e belisca assim os dedos e as dobras da palma da mão (Fotografia N.º 9).

Terminada a extração do veneno, segura-se novamente o telson com a pinça e soltam-se os dois dedos, repondo-se o escorpião numa placa de vidro, de bordos altos.

Para treinamento de noviços nesta tarefa perigosa, recomendo que se tomem 5-10 escorpiões e se cortem com tesoura os ferrões pela metade, de maneira que não haja mais ponta. Assim os escorpiões podem ser tomados na mão e mesmo que procurem encravar os ferrões, êstes não mais podem penetrar na pele humana. Como de resto o comportamento do escorpião continúa em tudo igual aos incólumes, constitúi isto um método prático de iniciação.

Tendo adquirido prática, é possivel extrair-se o veneno de 100 escorpiões em 1 hora, mais ou menos.

Terminada esta, voltam os escorpiões para seus viveiros, onde continuam a alimentar-se incontinente, podendo ser reaproveitados, após um determinado período de tempo, para nova extração do veneno, e assim por diante.

2. *Extração manual do veneno*: *Preparativos*: Embora tivessemos ensaiado diversos procedimentos para uma eficiente coleta do veneno (pipetas capilares, tubos capilares, etc.), adotamos finalmente o seguinte: Um pequeno vidro de relógio é bem limpo, sêco e exatamente tarado em balança ultra-sensivel. Este vidrinho é guardado dentro de uma Placa Petri. No momento do uso, é novamente bem limpo e sêco, sendo manejado apenas com pinça. Na extração do veneno este vidrinho é colocado por cima na placa de Petri e, sem se tocar nunca nele com a mão, depositam-se sucessivamente as goticulas de veneno.

*Processo de obtenção do veneno*: — Quando se prende o escorpião com a pinça, ele procura picar na mesma, surgindo então uma ou duas pequenas goticulas de veneno perto da ponta do ferrão. Ao tomar-se o aracnídeo entre os dedos, executa êle mais movimentos rápidos de flexão do ferrão, pelo que surge nova quantidade de veneno.

Quando já não aparece mais peçonha, vira-se levemente e com cuidado o escorpião para o lado e faz-se delicada pressão sobre o local das duas glândulas.

Em geral aparece, então, mais um pouco de veneno, que será reunido ao outro na plaquinha de vidro.

Embora se trate apenas de frações de miligramas por unidade escorpiônica, deve-se, contudo, acentuar que há variações muito grandes. 5-8% de escorpiões não fornecem veneno algum. Às vêzes estão entupidos os poros eferentes dos canais veneniferos. Podem ser desentupidos, roçando-se de leve pelos mesmos com a ponta da pinça. Mas mesmo após esta operação há escorpiões que não fornecem veneno; outros dão apenas uma goticula; outros fornecem fàcilmente 3 goticulas e de outros ainda jorra o veneno em fino esguicho, projetado para longe.

Em dois anos e meio de serviço com dezenas de extrações em vários milhares de indivíduos, chegamos à conclusão de que a variação individual na quantidade de veneno, ainda que sempre da ordem apenas de miligramas, fica, mais ou menos, como a relação de 1:10, isto é, há escorpiões que dão 10 vezes mais veneno do que outros.

Na avaliação de estatisticas sôbre obtenção de veneno escorpiônico, já publicadas ou a serem publicadas, dever-se-á tomar este fato em conta.

3. *Extração da peçonha por choque elétrico*: Pela união de 4 pilhas do tipo das usadas em holofotes de mão, é perfeitamente possivel instalar-se um

pequeno aparelho elétrico com intensidade de choque correspondendo a 6-7 Volt apenas (fotografia N.º 10).

Esta corrente é suficiente para determinar a expulsão do veneno escorpiônico, sem prejudicar o aracnídeo.

Preso o escorpião entre os dois dedos, encosta-se a base do telson nos dois pólos, o positivo e negativo, separados apenas 1 milímetro um do outro. Dá-se, então, um choque rápido-o que faz nascer o veneno, recolhido no vidro de relógio. Repete-se o curto choque umas três vêzes ou até que não apareça mais peçonha.

Pelo método do choque elétrico obtêm-se maior rendimento de veneno, embora também se verificassem as mesmas variações quantitativas individuais como na extração manual.

Em geral, porém, ao primeiro choque surge um fino jato de veneno cristalino, seguido depois, em cada percussão, por goticulas cada vez mais turvas e de aspecto leitoso.

Mesmo no choque elétrico há uns 3% de escorpiões que não fornecem veneno algum.

Querendo, para fins de estudo, obter apenas veneno do aspecto límpido, puro, transparente, então não se pode recomendar o método do choque, mas apenas o manual.

Em nosso serviço adotamos simultâneamente os dois métodos-o manual para obtenção da peçonha "hialina", transparente, e o elétrico para esgotamento da reserva peçonhenta.

Infelizmente nem sempre é possível separar categòricamente estas duas frações, a hialina e a leitosa, pois, como se pode imaginar fàcilmente, há naturalmente tôda a transição.

Na prática esta separação também não tem maior valor, pois ambos os tipos formam afinal o "veneno escorpiônico".

4. *pH do veneno*: Durante o ano de 1952 temos verificado cada mês o pH dos venenos liquidos, nascentes. O de *Tityus serrulatus* varia entre 6,2 e 6,9 e o de *Tityus bahiensis* entre 6, 4 e 7.

5. *Aspecto macroscópico do veneno*: Tanto o veneno de *Tityus serrulatus* como o de *T. bahiensis* tem o mesmo aspecto. A primeira gôta é geralmente transparente, límpida, semelhante à uma gotícula de orvalho. As gôtas seguintes são mais turvas, espessas. As últimas goticulas são leitosas, consistentes.

Em geral, tendo em vista uma grande quantidade de escorpiões das duas espécies, deve-se concluir que o *T. serrulatus* tem menos veneno "hialino", transparente, aparecendo já as primeiras goticulas um tanto turvas, enquanto que em *T. bahiensis* pode-se retirar quase sempre uma gota "hialina", seguida por outras, cada vez mais leitosas e espessas.

6. *Solubilidade do veneno*: O veneno hialino de ambas as espécies se dissolve muito fàcilmente em água destilada ou salina. Quanto mais leitoso fôr o aspecto do veneno, menos êle se dissolve em água ou salina, tendo as soluções aspecto opalescente, com grumos e flocos indissolúveis.

7. *Aspecto microscópico do veneno*: O veneno "hialino" de ambas as espécies, quando sêco sôbre uma lâmina ou quando em esfregaço, apresenta uma configuração que lembra muito a cristais (compare as fotografias). A natureza destas configurações "cristaloides" (?) não está ainda elucidada.

O veneno "leitoso" ao contrário apresenta aspecto amorfo, não se podendo encontrar diferenças microscópicas entre o das duas espécies.

8. *Quantidade de veneno liquido e sêco*: Terminada a extração dos lotes de escorpiões, é novamente pesado o vidro de relógio, para determinação do veneno liquido.

2. *Tityus serrulatus*

| Data | N.o escorpião | mg veneno liquido | mg. veneno sêco | % veneno sêco veneno liquido | mg. veneno sêco por escorpião |
|---|---|---|---|---|---|
| 7/1/52 | 170 | 0,0766 | 14,0 | 18,3 | 0,08 |
| 28/1/52 | 124 | 0,0166 | 3,5 | 21,0 | 0,028 |
| 12/3/52 | 116 | 0,0129 | 3,7 | 28,5 | 0,032 |
| 24/3/52 | 130 | 0.0338 | 8,7 | 22,7 | 0,067 |
| 8/4/52 | 124 | 0,0220 | 5,0 | 22,7 | 0,032 |
| 24/4/52 | 108 | 0,0346 | 6,8 | 19,7 | 0,063 |
| 8/5/52 | 111 | 0,0130 | 4,0 | 30,7 | 0,032 |
| 23/5/52 | 105 | 0,0252 | 8,4 | 33,3 | 0,080 |
| 6/6/52 | 100 | 0.0320 | 8,1 | 24,8 | 0,081 |
| 20/6/52 | 90 | 0,0188 | 4,7 | 25,0 | 0,052 |
| 7/7/52 | 80 | 0,0094 | 2,6 | 27,6 | 0,032 |
| 22/7/52 | 85 | 0,0114 | 3,1 | 27,1 | 0,036 |
| 7/8/52 | 85 | 0,0128 | 3,2 | 25,0 | 0,037 |
| 22/8/52 | 120 | 0,0242 | 5,8 | 24,0 | 0,048 |
| 9/9/52 | 118 | 0,0171 | 5,7 | 33,3 | 0,048 |
| 24/9/52 | 130 | 0,0212 | 6,7 | 31,6 | 0,059 |
| 9/10/52 | 159 | 0,0412 | 10,3 | 25,0 | 0,00[illegible] |
| 23/10/52 | 144 | 0,0338 | 8,2 | 24,2 | 0,057 |
| 6/11/52 | 164 | 0,0424 | 10,1 | 23,8 | 0,061 |
| 20/11/52 | 177 | 0,0241 | 6,5 | 27,0 | 0,035 |
| 10/12/52 | 155 | 0,03[illegible] | 9,0 | 25,0 | 0,059 |
| 26/12/52 | 121 | [illegible],0298 | 7,7 | 25,9 | 0,063 |
| Totais — | 2 716 | 0,5859 | 145,8 | | |
| Médias — | | [illegible] mg | | 25 a 25, 7% | 0,052 |

Em seguida seca-se a peçonha na mesma placa, em vácuo, sôbre cloreto de cálcio. O veneno sêco é novamente pesado dentro do vidro de relógio. Retira-se, então, o veneno sêco e faz-se uma terceira pesagem do mesmo (para contrôle da exatidão da segunda) e depois guarda-se a peçonha sêca sobre cloreto de cálcio, no dessecador, envolto em papel escuro.

3. *Tityus serrulatus*
(extração manual)

| Data | N.o escorpião | mg. veneno liquido | mg. veneno sêco | % veneno sêco veneno liquido | mg. veneno sêco por escorpião |
|---|---|---|---|---|---|
| 13/1/53 | 173 | 0,0410 | 12,0 | 29,2 | 0,069 |
| 30/1/53 | 165 | 0,0322 | 8,3 | 25,0 | 0,005 |
| 12/2/53 | 141 | 0,0160 | 4,0 | 25,0 | 0,029 |
| 13/3/53 | 121 | 0,0240 | 6,0 | 25,0 | 0,050 |
| 27/3/53 | 129 | 0,0256 | 6,4 | 25,0 | 0,050 |
| 11/4/53 | 195 | 0,0470 | 12,0 | 25,5 | 0,060 |
| 2/5/53 | 155 | 0,0350 | 9,0 | 25,7 | 0,058 |
| Totais | 1 078 | 0,2208 | 57,7 | | |
| Médias | | 0,20 | | 0,090 | 0,053 |

4. *Tityus serrulatus*
(Extração por choque elétrico)

| Data | N.o escorpião | mg veneno liquido | mg. veneno sêco | % veneno sêco veneno liquido | mg. veneno sêco por escorpião |
|---|---|---|---|---|---|
| 2/5/53 | 155 | 0,135 | 54,0 | 40,0 | 0,349 |
| 16/5/53 | 157 | 0,114 | 51,6 | 45,0 | 0,320 |
| Totais | 3 12 | 0,249 | 105,6 | | |
| Médias | | 1,0-0,8 | | 42,4 | 0,338 |

Por percussão elétrica pode obter-se uma quantidade de veneno espesso, de aspecto leitoso, bem maior do que por simples extração "manual".

A percussão elétrica parece esgotar realmente as duas glândulas veneníferas. O veneno é viscoso, muito menos líquido do que na extração manual.

Do processo manual podemos afirmar que é relativamente inofensivo ao escorpião. Não se esgotam as glândulas veneníferas. Na maioria dos indivíduos, se extrai apenas o veneno "hialino" ou um tanto turvo, sem chegar às últimas reservas.

A percussão elétrica, com 6 Volt, ao contrário, expele todo o veneno e certamente também algumas configurações celulares. Parece-nos que também êste método é bastante inofensivo. Pelo menos não verificamos aumento da

O fato do rendimento do veneno sêco por escorpião ser um pouco maior neste trimestre, em comparação com o do 1952, se explica pela remessa de 1.000 escorpiões, mais ou menos, em Março e que foram extraídos pela primeira vez.

7. *Tityus bahiensis*

(Extração por choque elétrico)

| Data | N. escorpião | mg veneno liquido | mg veneno sêco | % veneno sêco e veneno liquido | mg veneno sêco p/escorpião |
|---|---|---|---|---|---|
| 2/5/53 | 256 | 0,129 | 58,9 | 45,3 | 0,23 |
| 17/5/53 | 1.026 | 0.5121 | 235,6 | 46.0 | 0,23 |
| Totais: | 1.282 | 0,641 ml | 294,5 mg | | |
| Médias | | 0,5 | | 47,2 | 0,23 |

*INTERPRETAÇAO:*

1. A manutenção de escorpiões vivos para fins de estudos científicos (biologia, costumes, etc..), para experiências de precisão sôbre a atividade do veneno (titulação da peçonha, eletroforese, estudo químico, etc.) e para melhorar o método da obtenção do sôro anti-escorpiônico, tem indubitalvelmente grandes vantagens.

Os aspecto científico, por si só, já justificaria a criação em viveiros.

Quanto à obtenção da peçonha por extração, repetida cada 15 ou 20 dias, impõe-se a vantagem de se ter os escorpiões em laboratório, não dependendo mais da remessa de glândulas em glicerina.

Vejamos os dados estatisticos: No ano de 1952 vieram ao Butantan apenas 505 *Tityus serrulatus*. Tomando-se em conta a quota de mortalidade devido ao trajecto desde o local de captura até a chegada no Instituto e que soma a 38% (a mortalidade é alta nos primeiros dias de chegada), sobram dêstes 505 escorpiões apenas 315.

Si se praticasse o método antigo, ter-se-ia, portanto, apenas esta quantidade de ferrões para serem cortados e triturados.

Pelo método de criação, entretanto, repentindo-se a extração cada 2 ou 3 semanas, conseguimos extrair a peçonha de 2.716, escorpiões no ano de 1952, obtendo 145, 8 mg de veneno sêco em vácuo e guardado sôbre cloreto de cálcio, em dessecador escuro.

Em 1953 vieram apenas (até Maio) 77 *T. serrulatus*, mas foram extraídos 1.078, dando 57,7 mg de veneno sêco e os mesmos foram ainda submetidos à extração elétrica em número de 312, dando mais 105,6 mg de veneno sêco.

Assim, 380 escorpiões, em 31 extrações desde Janeiro de 1952 até Maio de 1953, forneceram 309 mg de veneno sêco. O trabalho é certamente trabalhoso, pois para a obtenção desta quantidade mínima foram extraidos nada menos de 4.174 escorpiões.

Com *Tityus bahiensis* verifica-se o mesmo. Vieram durante o ano de 1952 e até Maio de 1953, 1.786 escorpiões, com 674 mortos durante o trajeto e na 1.ª semana de viveiro. Entretanto, conseguimos extrair, neste período de tempo, o veneno de 6.148 aracnídeos, dando 697 mg de veneno sêco.

Além destas indiscutíveis vantagens (veneno sêco, mais ou menos puro, susceptíveis à pesagens rigorosas e soluções estandartizadas em mg de veneno sêco) acresce, neste processo, ainda outra: a de se poder aproveitar igualmente todas as glândulas dos animais que morrem. Dàriamente revisam-se os viveiros. Os escorpiões mortos são retirados, aproveitando-se as glândulas, guardadas como sempre em glicerina, para aproveitamento na imunização de cavalos.

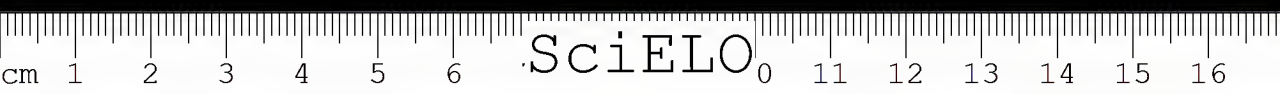
2. Da interpretação dos protocolos de extração aparecem os seguintes fatos curiosos: Na extração *manual* o veneno sêco por escorpião da espécie *T. serrulatus* está em tôrno de 0.052 mg (valor médio) e de *T. bahiensis* em tôrno de 0,07 — 0,08 mg. Este veneno é, quando líquido, transparente, "hialino" e quando sêco, apresenta o quadro de "cristaloides". Digno de nota é o fato, de veneno de *T. bahiensis* ser bem mais "hialino" e conter quase que sòmente configurações "cristalóides", enquanto que o veneno de *T. serrulatus*, mesmo já nas primeiras gotículas, contém muitas vêzes já a substância opalescente, um tanto leitosa. O quadro microscópico revela neste caso configurações "cristalóides" ao lado de uma substância amorfa. Na extração por eletro-choque, fornece um *T. serrulatus* 0,33 mg e um *T. bahiensis* apenas 0,23 mg. O aspecto microscópico dos dois venenos é igual uma substância amorfa. Também o aspecto macroscópico não difere em nada. É uma substância espessa, leitosa.

Quanto ao veneno líquido, fornece o *T. serrulatus*, em média, 0,2 mg e o *T. bahiensis* 0,4 mg, portanto, o dôbro do primeiro. O veneno sêco de *T. serrulatus* é de 25-26% do líquido e de *T. bahiensis* de 19,9% apenas, na extração manual. Isto significa que o veneno de *T. bahiensis* é mais diluído que o de *T. serrulatus* ou que contém mais das configurações, que chamamos de "aspecto cristalóide".

Pelo método de eletro-choque já não há quase diferença entre a percentagem de veneno sêco e líquido nas duas espécies (42,5% *T. serrulatus* e 45% *T. bahiensis*), como também não há diferença no aspecto microscópico dêste veneno "amorfo" das duas espécies.

A comparação do rendimento na quantidade do veneno sêco na extração manual e elétrica dá os seguintes dados médios por indivíduo:

*T. serrulatus* — manual — 0,052 mg; — elétrica — 0,33 mg;

*T. bahiensis* — manual — 0,07 mg; — elétrica — 0,23 mg.

Isto significa que a extração por processo de choque elétrico rende 6 vêzes mais veneno sêco no *T. serrulatus* e 3,3 vêzes mais no *T. bahiensis* do que a extração manual.

Somando-se, entretanto, as quantidades de veneno sêco, obtidas nos dois processoso manual e o elétrico — pois, na realidade foram sempre aplicados os dois na mesma ocasião, então temos os seguintes dados completos do veneno sêco por escorpião:

*T. serrulatus* — 0,38 mg por indivíduo; — quantidade média;

*T. bahiensis* — 0,30 mg por indivíduo — quantidade média.

O conteúdo das duas bolsas veneníferas nas duas espécies é, portanto, aproximadamente igual, o que corresponde também às dimensões e à robustez destes dois escorpiões, que são pràticamente iguais.

3. Quanto ao comportamento das duas espécies em viveiros observamos que o *T. serrulatus* é bem mais fácil de ser mantido em condições de laboratório. Ele se adapta bem nos viveiros, consoante talvez seus hábitos "domiciliares", enquanto que o *T. bahiensis* é mais irrequieto, procurando escapar, espalhando-se pelas paredes e pelo fôrro.

Temos mesmo a impressão, baseados em nossas observações, de que o *T. serrulatus* é mais resistente em viveiro do que o *T. bahiensis*.

Nos trabalhos da extração da peçonha é igualmente mais fácil operar-se com o *T. serrulatus*, pois a serrilha, presente no dorso do ante-penúltimo artículo caudal facilita muito a apreensão deste escorpião com a pinça, enquanto que a cauda do *T. bahiensis* é bem mais escorregadia.

4. Os valores mínimo e máximo de veneno por escorpião das duas espécies, embora sejam quantidades tão ínfimas que não possam ser medidas fàcilmente, não podem ser estabelecidos em base estatística. Entretanto, como já temos retirado o veneno de perto de 9.000 escorpiões e como temos sempre constatado que um certo número dêles não dá veneno algum, nem pelo processo manual, nem pelo elétrico, outro número fornece 2-3 gotículas ou mesmo mais e, finalmente, um certo lote, está tão carregado de veneno que este jorra em fino jato, estabelecemos a relação do mínimo e máximo como sendo de 1 : 10. Isto corresponderia, na realidade, ao fato de que existem escorpiões sem veneno algum (acidentes humanos de consequências nulas), ou relativamente com pouco veneno (0,2-0,3 mg), acarretando, em caso de picada numa pessoa, dôr intensa, mas passageira, com maior ou menor intoxicação geral, ou ainda com dose máxima de peçonha (2-3,5 mg), a prejudicar sèriamente uma pessôa. Cremos mesmo que os casos humanos fatais, devidos à picadas escorpiônicas, que ocorrem anualmente entre nós, principalmente em crianças, são devidos à escorpiões com doses elevadas de veneno.

## ZUSAMMENFASSUNG

*Künstliche Skorpiongiftentnahme.*

In Brasilien gibt es zwei Skorpionarten, deren Stich dem Menschen gefährlich werden kann und durch die schon mehrere Todesfälle vorgekommen sind und jährlich vorkommen. Es handelt sich dabei um die beiden Skorpione *Tityus serrulatus* und *Tityus bahiensis.*

Ersterer ist ein typischer Hausskorpion. Er macht sich die menschlichen Wohnungen zur eigenen Behausung; dringt da in alle Räume ein; versteckt sich in Schränken, Kleidungen, Beschuhung, unter Brennholz, Ziegeln, aufgerissenen Mauern, etc.. *T. serrulatus* kommt hauptsächlich in Belo Horizonte und nächster Umgebung vor, dann in Ribeirão Preto und in fast allen Städten des Staates São Paulo, die der Grenze vom Staate Minas Gerais entlang liegen, inklusive die Städte am Fusse des Mantiqueiragebirges.

*Tityus bahiensis* dagegen ist ein ausgesprochener Feldskorpion. Er haust meistens in Termitenbauten, in Erdrissen und Löchern. Da er in fast allen Gegenden des Staates São Paulo anzutreffen ist, einschliesslich der Hauptstadt von São Paulo, ist es nicht zu vermeiden, dass auch er sich in den Städten und menschlichen Wohnungen häuslich niedergelass en hat, entweder weil er durch Eisenbahngüter (Holz, Ziegel, etc..) dahin verschleppt wurde oder weil neue Städte und neue Stadtteile da entstanden sind, wo früher Land war und wo er immer schon gehaust hat.

Es ist dem Verfasser gelungen, diese beiden Skorpionarten an die Laboratoriumsbedingungen zu gewöhnen. In Holzkästen von 60 zu 60 cm Länge und Breite und 20 cm Höhe können ohne Weiteres an die 100 Skorpione untergebracht werden. Als Unterschlüpfe verwendet man am besten schwarzen steifen Karton, dessen Ränder man nach unten biegt (20:20:3 cm Länge, Breite und Höhe). Die Skorpione halten sich darunter vorwiegend auf und verlassen diese Verstecke nur wenn es dunkel wird.

Der bekanntlich unter den Skorpionen herrschende Kannibalismus wird am besten durch reichliche Nahrungszufuhr bekämpft. Die Nahrung besteht am besten aus kleinen Spinnen, die mit Vorliebe verspeist werden. Grössere Spinnen kann man zerkleinern, damit alle Skorpione etwas erhalten. Zerriebenes Fleisch wird auch angenommen, wenn auch mit weniger Neigung als Spinnen. Als vorteilhafter Nahrungsplatz erweist sich natürlich der Unterschlupf, weil sich ja da die Skorpione aufhalten. Am besten legt man die Nahrung auf kleinere Kartons und schiebt diese unter die Unterschlüpfe. So kann man auch sehr bequem jeden Tag die Säuberung ausführen.

Der kannibalistische Trieb wird nur wach, wenn die Weibchen ihre oft über 20, lebendiggeborenen, Jungen auf dem Rücken tragen. Ohne Gegenwehr

frisst dann ein Skorpion die Jungen der anderen Mutter auf. Oft, wie nach Vereinbarung, stellen sich drei mit Jungen beladene Weibchen gegenüber und fassen abwechselnd mit den Händen auf den Rücken der Partnerin. Das geht stundenlang, bis kein Jungtier mehr vorhanden ist.

Will man also Skorpione hochzüchten, so ist es unbedingt nötig, die mit jungen beladenen Weibchen aus den Kästen herauszunehmen und in Einzelbehälter zu bringen.

Alle zwei Wochen müssen die Skorpione entfernt und die Kästen mit viel Wasser und Seife gut gereinigt werden.

Auf diese Weise ist es uns gelungen, hunderte von Skorpionen der beiden Arten monatelang am Leben zu erhalten und ihnen alle 2 bis 3 Wochen das Gift abzunehmen.

Skorpiongift in trockener und möglichst reiner Form zu gewinnen, um damit Pferde zu immunisieren zu einem gut dosierbaren Anti-Skorpion Serum, war immer das Ziel aller Institute, die gegen die giftigen Skorpione Sera herstellen. Aber bisher arbeiten wohl alle, indem sie frischen, eben getöteten Skorpionen das letzte Schwanzglied mit den beiden Giftdrüsen abschneiden. Dieses dann im Mörser zerreiben und auf je 10 Glieder 1 $cm^3$ physiologische Kochsalzlösung dazugeben. Nach Mazerierung wird abzentrifugiert und der überstehenden Flüssigkeit reines Glyzerin im Verhältnis von 2:1 dazugegeben. Diese Lösung wird dann an Meerschweinchen oder Mäusen titriert, wobei die Menge der Drüsen pro $cm^3$ als Ausgangspunkt gilt.

Mit dieser Lösung werden auch die Pferde, in immer steigenden Dosen, innerhalb von Wochen, immunisiert.

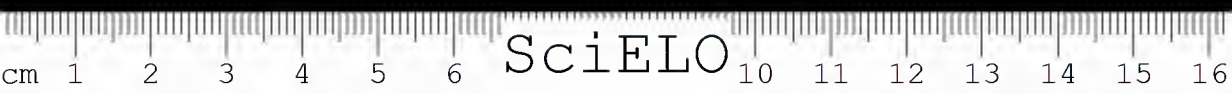
Es war allen klar, dass diese Methode, sowohl der Titrierung wie auch der Immunisation, keine genaue sein konnte. Man konnte nie feststellen, ob die Drüsen nun auch wirklich Gift enthielten und wieviel. Die Pferde wurden nicht bloss mit Skorpiongift immunisiert, sondern auch mit Muskel, — Drüsen —, und Epithelzellen und anderen eiweisshaltigen und wasserlöslichen Chitinstoffen, die durch das Mazerat des totalen Schwanzendgliedes in Lösung übergegangen waren.

Dem verschiedenartigem Antigen zufolge mussten auch verschiedene Antikörper im Pferde gebildet und ins Serum übergenommen werden.

Es fehlt nicht an Forschern, die aus diesem Grunde den Skorpionseren aus aller Welt eine nur sehr geringe, und ausserdem praktisch unkontrollierbare Wirkung, zuschreiben.

Es war uns daher sehr daran gelegen, die Möglichkeit der Reingiftgewinnung praktisch zu erproben.

Wir wenden dabei zwei Methoden an, die der manuellen und der elektrischen Giftgewinnung. Bei beiden Methoden wird ein Skorpion nach dem anderen mit-

einer gebogenen, mit kleinen Zähnchen ausgestatteten Pinzette am vorletzten Schwanzglied angefasst und mit der rechten Hand hochgenommen. Daumen und Zeigefinger der linken Hand greifen dicht an das letzte Schwanzglied, der Daumen ober-und der Zeigefinger unterseits. Für den Zeigefinger besteht keine Stichgefahr, weil der Schwanz nicht nach unten gebogen werden kann. Um aber den blitzschnellen Stossen des Stachels nach oben zu entkommen, schützt der undurchdringliche Daumennagel, der natürlich mit seinem Ende dem Skorpionglied eng aufliegen muss, damit kein Stich unter den Nagel erfolgen kann.

Hat man nun den Skorpion in dieser Stellung, lässt man die Pinzette los. Da das Tier Aufwartsbewegungen macht und dabei Gift entleert wird, kann man ohne Weiteres diese Gifttröpfchen in einem kleinen, sorgfältig reinem und zuvor genau abgewogenen Uhrglasschälchen aufnehmen. Dann versucht man es noch eimal. Kommt kein Tröpfchen mehr zum Vorschein, dreht man den Skorpion vorsichtig zur Seite, immer zwischen den beiden Fingern der linken Hand und presst leicht gegen die Giftdrüsenwände. Oft kommt dann noch ein weiteres Tropfchen, das wiederum im Schälchen aufgenommen wird. Zum Schluss fasst man den Skorpion wieder mit der Pinzette und bringt ihn in den Kasten zurück.

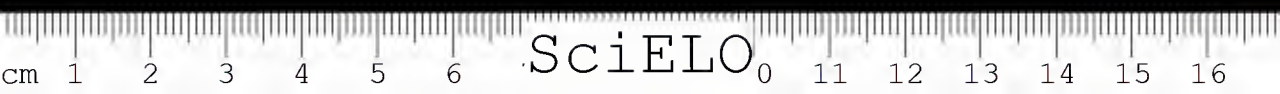
Nach einiger Übung ist es möglich an die hundert Skorpione in 1 Stunde zu entgiften.

Um Anfänger mit dieser nicht ungefährlichen Arbeit vertraut zu machen, empfiehlt es sich, etwa 10 Skorpionen den Stachel etwas vor der Mitte abzuschneiden, so dass der restliche Teil keine Spitze mehr hat, also auch nicht mehr die menschliche Haut durchbohren kann.

Da sich so ein Skorpion in Allem genau wie ein unversehrter benimmt, kann man auf diese Weise den Prozess gut erlernen.

Die Giftabnahme auf *elektrischem* Wege ist ähnlich. Mit 4 Taschenlampenbatterien kan man sich leicht ein Instrument zurechtbauen mit positivem und negativem Pol-der eine nur 1 mm vom anderen entfernt- mit einer ungefähren Stärke von 5-6 Volt.

Man nimmt dann den Skorpion wie bei der manuellen Methode und kommt mit der Unterseite seines Schwanzgliedes mit den beiden Polen in Verbindung. Alsbald entsteht eine Kontraktion mit rascher Aufwärtsbewegung und am Ende des Stachels kommen die Gifttröpfchen zum Vorschein, die im Uhrgläschen gesammelt werden.

Nach Beendigung der Giftabnahme wird das Schälchen abgewogen, um die Menge des flüssigen Giftes zu bestimmen. Dann kommt das Schälchen in einen Exsikator mit Vakuum, um das Gift zu trocknen. Nach dem Trocknen wird wieder abgewogen, um das Trockengift zu bestimmen.

Die gesammelten Trockengiftmengen können ohne Weiteres im Exsikator, unter Vakuum, über Kalziumchlorit monatelang aufgehoben werden.

Dass sich die, wenn auch etwas mühselige und gefährliche, Methode wirklich rentiert, mag aus folgenden Ziffern hervorgehen:

Im Jahre 1952 erhielt das Institut Butantan von der Art *Tityus serrulatus* nur 505. Davon starben unterwegs und in der ersten Woche wegen Entkräftigung an die 38%. Von den restlichen 315 konnten im selben Jahre 2.716 Giftabnahmen mit 145,8 mg Trockengift gemacht werden. 1953 (bis Mai) kamen von auswärts nur 77 Skorpione. Da die vom vorigen Jahre noch grösstenteils am Leben waren, konnten in dieser Zeit wiederum 1.078 Abnahmen mit 57,7 mg Trockengift gewonnen werden. Ausserdem wurde zur selben Zeit noch 312 Skorpionen das Gift auf elektrischen Wege abgenommen (nach der manuellen Extraktion) und nochmals 105,6 mg Trockengift erreicht.

380 *Tityus serrulatus* ergaben also in 16 Monaten 4.106 Giftabnahmen (alle 2-3 Wochen) mit insgesammt 309 mg Trockengift.

Von der anderen Art, *Tityus bahiensis,* erhielt Butantan 1952 und bis Mai 1953 an die 1.786, mit 674 Toten darunter. Dennoch konnten während derselben Zeitspanne 6.148 Giftabnahmen (manuell und elektrisch) gemacht und 697 mg Trockengift gewonnen werden.

Unter anderen interessanten Tatsachen wurden folgende Zahlen festgelegt:

1. Die Durchschnittstrockengiftmenge pro Individum bei der manuellen Extraktion liegt bei. *T. serrulatus* bei 0,052 mg; bei *T. bahiensis* bei 0,07 mg; bei elektrischer Extraktion bei *T. serrulatus* bei 0,33 mg und bei *T. bahiensis* 0.23 mg. Addiert man die Ergebnisse beider Extraktionen, wie es der Wirklichkeit entspricht ,da ja dieselben immer geich hintereimander von selben Individuum gemacht wurden) so erhalt man als Gesammtergebnis: *T. serrulatus* 0,38 mg Trockengift und *T. bahiensis* 0,30 mg pro Einheit.

Die elektrische Methode erzielt bei *serrulatus* 6 mal und bei *bahiensis* 3 mal die Giftmenge der manuellen Abnahme.

2. Was das flüsige Gift anbetrifft gibt 1 *serrulatus manuell* 0,0002 ml, ein *bahiensis* aber 0,0004. Elektrisch erhält man von 1 *serrulatus* 0,0008 ml und von einem *bahiensis* 0,0005 ml.

Bei *serrulatus* ist also das manuell gewonnene Trockengift 25-26% und bei *bahiensis* 19,9 % des flüssigen Giftes.

Bei der elektrischen Methode dagegen liegen die Prozehnte des Trockengiftes zum flüssigen Gifte bei beiden Arten ungefähr auf gleicher Höhe — 42,5% bei *serrulatus* und 45% bei *bahiensis.*

3. Interessant ist weiter die Tatsache ,dass die ersten Giftröpfchen bei der manuellen Abnahme klar und durchsichtig sind, wäkend die weiteren Tröpfchen immer trüber, milchiger aussehen, besonders bei der elektrischen Abnahme.

Das klare Gift ist besonders bei *bahiensis* gut zu sehen. Im mikroskopischen Bilde scheint dieses Klargift "krystalloider" Natur zu sein, während das dicke, milchige "Sekundärgift" amorpher Natur ist.

4. Es muss ausserdem erwähnt werden, dass die genannten Mittelwerte, obwohl sie an grossen Zahlen errechnet wurden, dennoch der Wirklichkeit nicht entsprechen. Wir haben bei den tausenden von Giftabnahmen feststellen können, das unter den Skorpionen beider Arten manche überhaupt kein Gift besitzen (weder manuell noch elektrisch); andere haben 1-3 Tröpfchen; wieder andere etwas mehr. Schliesslich ist ein gewisser Prozehntsatz darunter, dessen Gift bei der elektrischen Abnahme mit einem richtigen dünnen Strahl ausspritzt. Wir sehen uns daher zu der Schlussfolgerung veranlasst, die minimalen und maximalen Giftmengen pro Skorpion lägen ungefähr wie 1: 10. Nach den oben errechneten totalen Mittelwerten wären also die Minima bei beiden Arten bei Null und die Maxima bei *serrulatus* um 3,8 mg bei *bahiensis* um 3 mg herum.

Dass Dieses den Tatsachen zu entsprechen scheint, geht aus den menschlichen Unfällen hervor. Es gibt Skorpionstiche, wobei das Opfer kaum etwas mehr als einen kleinen Schmerz verspührt. Andere Fälle zeigen, ausser rasendem Schmerz, der stundenlang anhalten kann, auch Symptome einer Allgemeinvergiftung und schliesslich ist ein gewisser Prozehntsatz auzuführen, hauptsächlich bei kleinen Kindern, der unter allgemeinen, sehr schweren nervösen Symptomen, zum Tode durch Erstickung führt.

## SUMÁRIO

Após alguns anos de experiência são publicados os dados referentes à manutenção dos escorpiões *Tityus serrulatus* e *T. bahiensis* em condições de laboratório e os processos de extração periódica de sua peçonha.

Quanto ao "habitat" natural é assinalado o hábito "domiciliar" para o *T serrulatus* (Ribeirão Preto, Belo Horizonte e cidades fronteiriças com o Estado de Minas Gerais) e o hábito "campestre" para o *T. bahiensis*, que ocupa cidades quase que só acidentalmente, embora seja encontrado atualmente em inúmeras cidades do Estado de São Paulo, Minas, Rio de Janeiro, Espirito Santo e Bahia.

Observou-se que na criação e manutenção em viveiros, o *T. serrulatus* é mais resistente e se sente mais acomodado do que o *T. bahiensis*.

No tocante à obtenção da peçonha das duas espécies é demonstrado que êste método, apesar de ser operoso e não isento de perigo, fornece realmente veneno sêco em quantidades apreciáveis o que justifica plenamente os cuidados diários, pois tal quantidade nunca seria atingida com os escorpiões que o Instituto Butantan recebe anualmente pelos fornecedores.

380 *T. serrulatus*, vindos de fóra, deram 4.106 extrações em 16 meses com 309 mg de veneno sêco e 1.100 *T. bahiensis deram* 6.148 extrações com 697 mg de veneno sêco.

Em 7 protocolos estatísticos são calculadas as quantidades de veneno sêco, de veneno líquido e da percentagem do veneno sêco em relação ao líquido nas duas espécies, tanto no processo, chamado "manual" de extração, como no processo de extração por choque elétrico.

Para fins de experiências científicas procurou-se separar o veneno em dois tipos o "hialino" e o "leitoso", demonstrando-se ser o primeiro muito higroscópico, bem mais que o segundo e ter o primeiro aspecto microscópico de configurações chamadas "cristalóides" (sem pretender que sejam realmente cristais) e o segundo aspecto amorfo, uniforme.

Somando-se os venenos secos das duas extrações — a manual e a elétrica — e comparando-se os resultados nas duas espécies, chega-se à conclusão de que o *T. serrulatus* fornece em média 0,38 mg por indivíduo e o *T. bahiensis* 0,30 mg.

Insiste-se, entretanto, que êstes valores médios, calculados sôbre grande número de escorpiões, nem sempre condizem com a realidade, pois foi demonstrado que há um bom número de indivíduos que não fornecem veneno algum, quer na extração manual, quer na elétrica, enquanto que outros tem 2-3 gotas ou mais e outros ainda apresentam verdadeiros jatos veneníferos. Os valores mínimo e máximo, si bem que não mensuráveis, por estarem na ordem entre 0 e 0,3 mg até talvez 3 mg (respectivamente valor mínimo, médio e máximo), existem realmente e explicam — a nosso ver — os casos humanos fatais, ocorridos principalmente em Ribeirão Preto e Belo Horizonte.

## SUMMARY

The author presents experimental results of several years of observation on the keeping of *Tityus serrulatus* and *Tityus bahiensis* scorpions under laboratory conditions with periodic extraction of their venom.

He describes the domiciliary habits of the *T. serrulatus* which lives preferably in population centers (Ribeirão Preto, Belo Horizonte, and towns on the border of the State of Minas Gerais), whereas the *T. bahiensis* of more campestral habits, is only occasionally found in towns, even if its presence has lately been reported in various localities of the States of São Paulo, Minas, Rio de Janeiro, Espirito Santo, and Bahia.

For breeding and keeping purposes, the *T. serrulatus* was observed to be more resistant and better suited than the *T. bahiensis*.

The extraction of the venom from these 2 species is a laborious process which is not void of danger, but the appreciable quantities of dry venom

obtainable, justifity the extra daily care, as the same total yield per annum could never have been obtained by the usual process of extraction from the killed animals which the Institute receives from its suppliers.

During 16 months, the author succeeded in collecting 309 mg of dry venom from 4.106 extractions of 380 *T. serrulatus* and 697 mg from 6.148 extractions of 1.112 *T. bahiensis*.

The amounts of dry and of liquid venom, as well as the percentage of dry venom in relation to the liquid in both species, which were obtained either by the so-called "manual" extraction method or by means of an electric shock, are calculated in 7 statistical tables.

For scientific purposes the venom was separated into 2 types, "hyaline" and "milky", the first of which was shown to consist of microscopic so-called "crystalloid" configurations (without inferring they are really crystalline) and to be much more hygroscopic than the milky type which presented a uniform amorphous aspect.

In order to compare the results of venom extraction by both the manual and the electric method for the two species, the amounts of dry venom were added up, giving a mean yield of 0,38 mg per individual *T. serrulatus* and 0,30 mg per *T. bahiensis*.

The average values, however, which were calculated from quite a large number of scorpions, have a rather limited meaning, as many animals yield no venom at all by either extraction method whereas others give 2 to 3 drops and some may even squirt out considerable quantities of venom. The extensive range, from 0,0 mg for the minimum, through 0,3 mg for the mean up to, possibly, 3,0 mg for the maximum yield of venom from a single scorpion may, according to the author, explain the occurrence of fatal human cases, principally in Ribeirão Preto and Belo Horizonte.

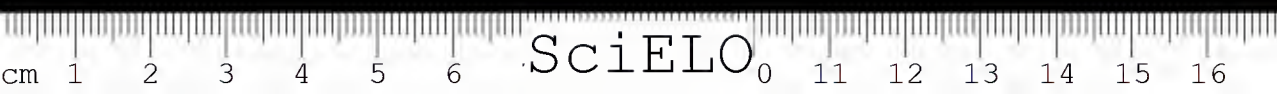
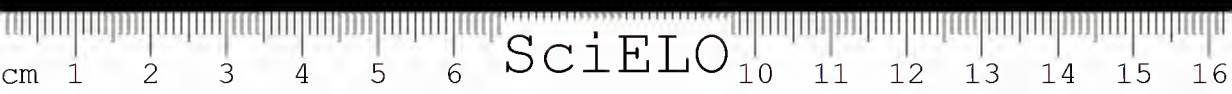



Fig. 1 — *Tityus serrulatus*

Fig. 2 — *Tityus bahiensis*

Foto 3 — Moradia em Belo Horizonte, com ausência de rebôco nas paredes externas. Foram retirados 8 *T. serrulatus* das paredes. Fotografado pelo A.)

Foto 4 — Pedras naturais, sem ajuntamento por reboco, dão esconderijo ao escorpião. Belo Horizonte. Encontra am-se 12 *T. serrulatus* neste trecho do fundamento. (Fotografado pelo A.)

Foto 5 — Do alpendre sob a casa foram retirados 7 *T. serrulatus* Belo Horizonte. (Fotografado pelo A.)

Foto 6 — Belo Horizonte. Fotografia tirada pelo A. num bairro, onde o *T. serrulatus* se tornou uma praga domiciliar. Os feixes de lenha, as pedras colocadas a esmo, os madeiramentos e tijolos, oferecem o máximo de confôrto ao escorpião.

Foto 7 — Um escorpião matando uma *Lycosa erythrognatha*.

Foto 8 — As duas flechas indicam como se deve prender o escorpião com a pinça.

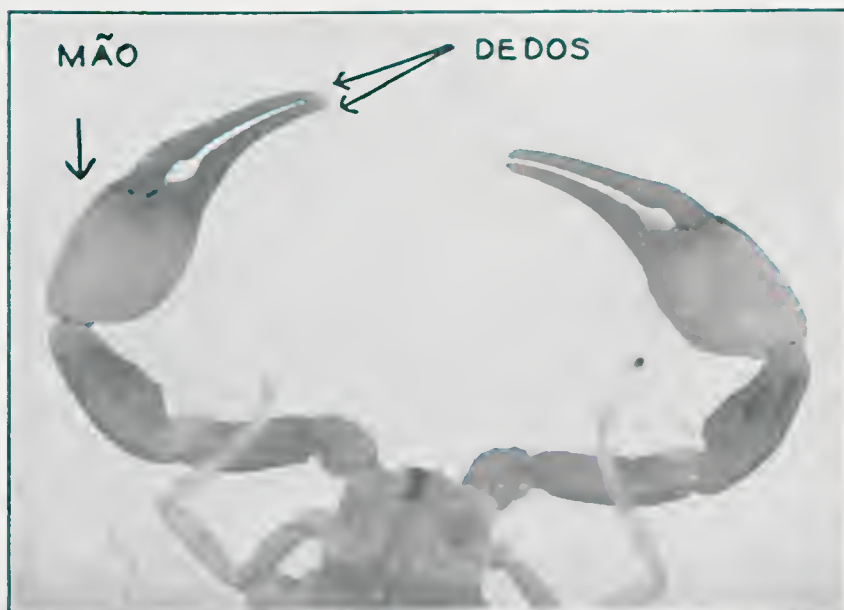



Foto 9 — As duas "mãos" do escorpião, vendo-se entre os "dedos" pequenos dentes.

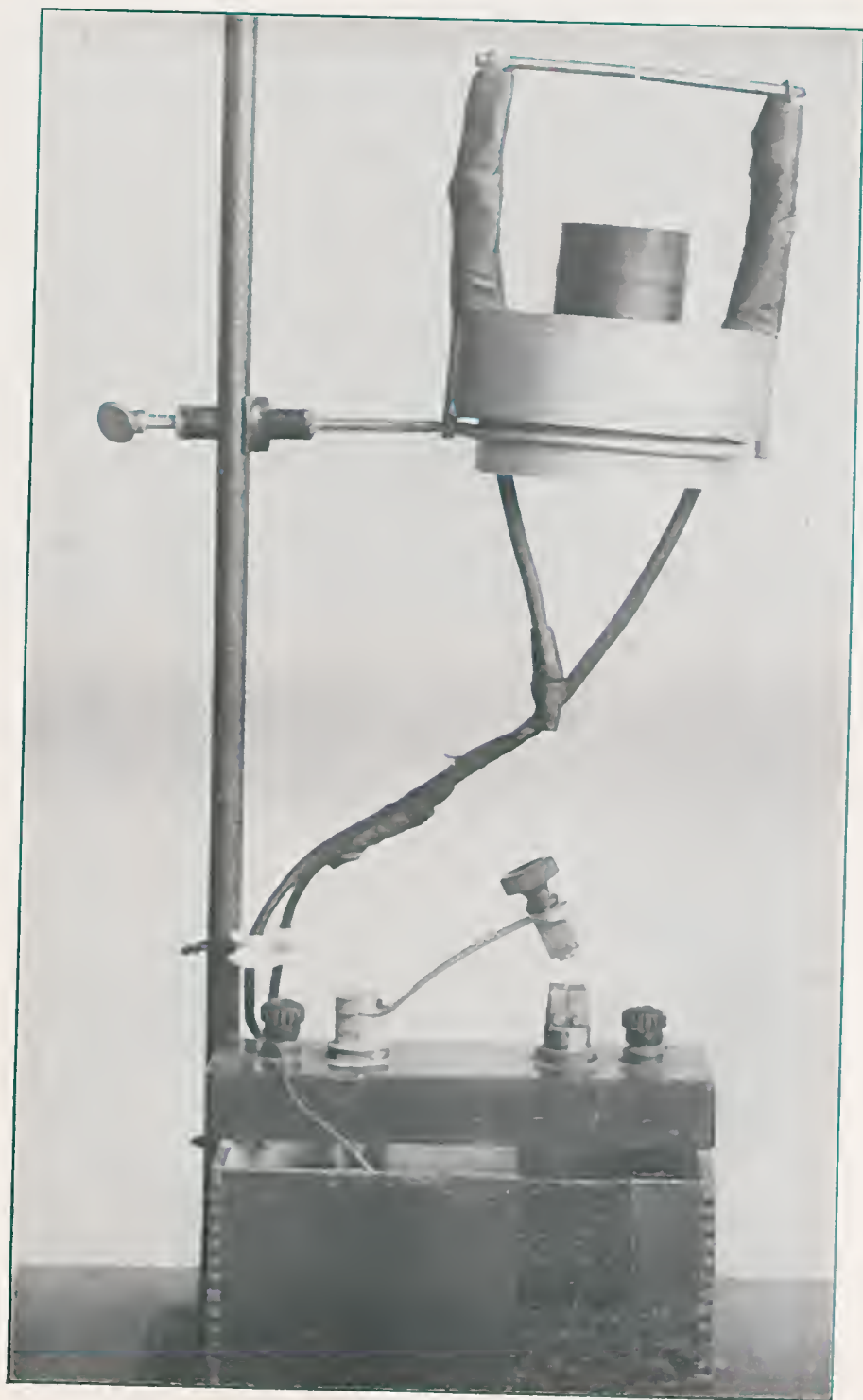



Foto 10 — Aparelho empregado na extração do veneno de escorpião por meio de estimulo elétrico.

# ESCORPIÕES E ESCORPIONISMO NO BRASIL

## 2. *Atividade das peçonhas de* Tityus serrulatus *e* T. bahiensis *sôbre camundongos*

WOLFGANG BÜCHERL

(*Laboratório de Animais Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*)

### INTRODUÇÃO

Muitos pesquisadores têm procurado averiguar a ação da peçonha dos dois escorpiões sul-americanos, *Tityus serrulatus* (do Brasil) e *T. bahiensis* (Argentina, Paraguai e principalmente Brasil). Entre outros devem ser mencionados H. Maurano (1) que estabeleceu a dose mínima mortal do veneno sêco, obtido por choque elétrico do *T. bahiensis*, como sendo de 1.5 mg para o cobaio, em injeção subcutânea.

V. Brasil (2), ao relatar suas experiências com a fabricação do primeiro sôro anti-escorpiônico, monovalente, contra o *T. bahiensis*, titulou este sôro em cobaios.

O. Magalhães (3) fez diversos ensaios de dosagem das peçonhas tanto de *bahiensis* como de *serrulatus*.

Longe de querer desmerecer êstes pesquisadores e pioneiros, vemos, contudo, a necessidade de proceder a novas dosagens, possivelmente mais rigorosas e reproduzíveis, estabelecendo não mais as doses mortais mínimas, mas a LD50, tanto por via venosa como subcutânea das peçonhas das duas espécies.

Era de interesse também, não dosar sòmente o veneno em bruto, mas possivelmente separar as diversas colheitas, isto é, o veneno correspondente às gotículas límpidas, hialinas, o das gotas opalescentes e o das últimas gotas, leitoso, espesso, para estabelecer qual das frações era mais ativa.

### OBTENÇÃO DA PEÇONHA

Os escorpiões das duas espécies estão sendo mantidos vivos no laboratório de Animais Peçonhentos. Duas a três vezes por semana recebem alimento que consiste principalmente em aranhas.

Entregue para publicação em 30 de Junho de 1953

Cada 15 a 20 dias, em média, é retirada dêles a peçonha, empregando-se nisto dois processos: o da simples extração manual e o do choque elétrico.

O *T. bahiensis* costuma fornecer nas primeiras 2 gotículas um veneno liquido transparente, hialino, que pasaremos a chamar de "fração hialina". Na medida que seca ostenta movimentos brownianos. Em estado sêco aparecem figuras com aspecto de cristais, com agulhas muitas vezes ramificadas (Fotos 1 e 2).

As gotículas seguintes são opalescentes, aqui chamadas de "Fração opalescente" e as últimas gôtas, finalmente, têm aspecto leitoso. Secam estas sem movimento browniano perceptível. Em estado sêco apresentam um aspecto uniforme, granular, com raras formações "cristalóides". Esta peçonha chamanos ed "fração leitosa" (fotos 3 e 4).

No *Tityus serrulatus* existem igualmente estas 3 frações, ainda que, na maioria dos indivíduos, já o primeiro veneno se apresente opalescente, portanto com as frações leitosas e hialina misturadas.

Também nesta espécie a microfotografia mostra o aspecto "cristalóide" da fração hialina e o amorfo, de grânulos, na fração leitosa (Fotos 5 e 6).

Não é assunto dêste trabalho analisar as frações ou a verdadeira natureza principalmente do veneno leitoso e do hialino, de maneira que a expressão "cristalóide" deve significar aqui apenas um termo que permita distinguir fàcilmente de que fração de peçonha se trata.

Das duas espécies escorpiônicas foram isoladas as três frações e depositadas separadamente, em pequenos vidros de relógio, exatamente tarados. Os venenos foram secos à temperatura ambiente, em vácuo. Após secagem pesava-se rigorosamente a placa, para verificação da quantidade de veneno sêco. Este era guardado sêco, em vácuo, sôbre cloreto de cálcio, em ambiente escuro

Cada 15 ou 20 dias repetia-se o processo de extração, juntando-se as diferentes frações, cada uma por si, para resguardo em vácuo, sôbre clorêto de cálcio.

## PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DA PEÇONHA

Cada fração dos três venenos das duas espécies era rigorosamente pesada em balança ultra-sensivel. Preparava-se, em seguida, uma solução em água destilada mais cloreto de sódio a 8,5 por mil. Com esta solução faziam-se as diluições, também com água fisiológica, empregando-se em todo o processo de diluição o máximo rigor (uso de pipetas calibradas; tubinhos de dosagem bem limpos e rigorosamente secos; ausência de bolhas de ar, etc.).

Empregamos interpelações entre 0,001 mg e 0,01 ou entre 0,01 mg e 0,1 mg de veneno sêco, estabelecendo em cada escala de dosagem 7 termos, com

o fato: de diluição 1.408. As soluções de peçonha eram diluídas com salina de maneira que o total do inoculum correspondia a 0,5 $cm^3$, quando injetado na veia e a 0,3 $cm^3$, quando injetado subcutâneamente.

A injeção venosa era feita na veia caudal dos camundongos e a subcutânea sobre o músculo da perna. No último caso não se tinha garantia absoluta de a injeção não ter penetrado ocasionalmente dentro do músculo, mas via de regra podia ela ser considerada como subcutânea.

Como animal de ensaio empregamos camundongos dos biotérios do Instituto. Foram pesados imediatamente antes dos ensaios, admitindo-se apenas desvios de 2 gramas sôbre o pêso standard de 20 gramas por animal. Não ligamos importância ao sexo, empregando indiretamente machos e fêmeas.

Terminada a dosagem foram os camundongos observados durante o tempo de intoxicação e mais ainda durante as seguintes 24 horas. De uma certa quantidade dêles, principalmente dos que foram injetados subcutâneamente, fizeram-se necrópsias para descobrimento de possíveis lesões, determinadas pela peçonha.

No preparo das soluções de veneno temos constatado que a fração do veneno sêco que correspondia ao veneno hialino é muito higroscópica, dissolvendo-se fàcilmente na salina e fornecendo uma solução límpida, principalmente no *T. bahiensis*.

As frações de peçonhas correspondentes ao veneno opalescente forneciam nas duas espécies soluções levemente opalescentes, com uma quantidade mínima de substância que não se dissolvia.

As frações da peçonha sêca provenientes dos venenos leitosos dissolviam-se com alguma dificuldade na proporção de 1 mg, mais ou menos, para 8 $cm^3$ de água fisiológica. A solução apresentava aspecto opalescente, havendo mesmo pequenos grumos e flócos indissolúveis no permeio.

Como em nossos ensaios tivessemos trabalhado sempre apenas na ordem de 1 a 4 mg de veneno sêco, não tínhamos à mão meios de pesar rigorosamente êste resíduo insolúvel. A igualação do pH da solução ao do veneno natural também não favorecia a solução. Pensamos que êstes resíduos devem ser restos de células glandulares do aparelho venenífero do escorpião.

Nas dosagens empregamos seringas rigorosamente calibradas, praticando-se a injeção lentamente principalmente quando dada na veia.

## DETERMINAÇÃO DA $LD_{50}$ EM CAMUNDONGOS

Na titulação da dose 50% letal para camundongos, por via venosa e subcutânea, das peçonhas sêcas, rigorosamente pesadas e dissolvidas em salina, empregamos o método de Reed Muench (4), entrando no resultado o cálculo das mortalidades acumuladas e sucessivas de todos os grupos de animais ensaiados.

1. *Titulação da $LD_{50}$ do veneno "hialino, cristalóide"*

*Tityus serrulatus*

(via venosa)

| Dose mg. | Camundongos | | | Acumulação dos resultados | | | % de mortalidade |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | total | vivos | mortos | vivos | mortos | total | |
| 0,01 | 5 | 5 | 0 | 14 | 0 | 14 | 0 % |
| 0,015 | 5 | 5 | 0 | 9 | 0 | 9 | 0 % |
| 0,021 | 5 | 3 | 2 | 4 | 2 | 6 | 33 % |
| 0,032 | 5 | 1 | 4 | 1 | 6 | 7 | 85,5 % |
| 0,046 | 5 | 0 | 5 | 0 | 11 | 11 | 100 % |
| 0,068 | 5 | 0 | 5 | 0 | 16 | 16 | 100 % |
| 0,1 | 5 | 0 | 5 | 0 | 21 | 21 | 100 % |
| Fator de diluição 1,468 | 35 | 14 | 21 | 28 | 56 | 84 | $LD_{50}$ = 0,024 |
| $LD_{50}$ por grama de camundongo = 0,012 mg | | | | | | | |

Repetiu-se a mesma dosagem com uma partida de veneno sêco, proveniente do veneno líquido hialino de *Tityus serrulatus*, já com 8 mêses de laboratório e submetido a 14 extrações.

A toxicidade variou muito pouco, sendo a $LD_{50}$ = 0,0016 mg por grama de camundongo.

*Tityus bahiensis*

(via venosa)

| Dose mg. | Camundongos | | | acumulação dos resultados | | | % de mortalidade |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | total | vivos | mortos | vivos | mortos | total | |
| 0,1 | 5 | 5 | 0 | 11 | 0 | 11 | 0 |
| 0,16 | 5 | 4 | 1 | 6 | 1 | 7 | 14,3 |
| 0,25 | 5 | 2 | 3 | 2 | 4 | 6 | 66,6 |
| 0,40 | 5 | 0 | 5 | 0 | 9 | 9 | 100 |
| 0,63 | 5 | 0 | 5 | 0 | 14 | 14 | 100 |
| 1,00 | 5 | 0 | 5 | 0 | 19 | 19 | 100 |
| Fator de diluição 1,585 | 30 | 11 | 19 | 19 | 47 | 66 | $LD_{50}$ = 0,225 |
| $LD_{50}$ por grama de camundongo — 0,011 mg. | | | | | | | |

Nesta partida de veneno tomou-se o cuidado de aproveitar apenas a primeira gotícula do hialino, límpido e muito transparente.

Repetimos a mesma dosagem, também com veneno líquido hialino, mas apenas da segunda e terceira gotícula. Nesta segunda titulação a dose 50%

letal para camundongos, por via venosa, era de 0,002 mg por grama de camundongo.

Verifica-se, portanto, uma variação bastante acentuada entre a primeira gotícula e as gotículas seguintes, tôdas elas de aspecto hialino, transparente.

*Tityus serrulatus*
(via subcutânea)

A titulação da dose 50% letal para camundongos, por via subcutânea, feita com o mesmo fator de diluição como na via venosa (1,468) e com a mesma partida de peçonha, deu em 35 camundongos num ensaio 0,002 miligramas por grama de animal, e num segundo ensaio 0,0018 mg por gr. de camundongo.

A dose 50% letal por via subcutânea é, portanto, apenas 1 e meia vêzes mais elevada do que a venosa.

*Tityus bahiensis*
(via subcutânea)

A mesma peçonha, empregada na titulação por via venosa, com o mesmo fator de diluição (1,585) deu como dose 50% letal por grama de camundongo 0,025 mg, quando se aproveitava apenas a primeira gota de veneno; nas duas gotas seguintes a dose 50% letal era de 0,004 mg por grama de camundongo.

Entre as doses subcutânea e intravenosa da fração hialina de *T. bahiensis* há, portanto, o dobro.

2. *Titulação da $LD_{50}$ do veneno sêco, proveniente da peçonha opalescente*

*Tityus serrulatus*
(via venosa)

Tomando-se novamente 1,468 como fator de diluição da peçonha e praticando-se as injeções na veia em 7 séries de camundongos do mesmo pêso (5 animais em cada série), verificou-se em 35 camundongos que a dose 50% mortal era numa amostra de veneno 0,0009 miligramas por grama de animal e de uma outra amostra 0,0011 mg por grama.

Houve, portanto, muito pouca diferença entre as duas titulações.

O veneno sêco proveniente da fração liquida opalescente é, portanto, um pouco mais ativo do que o "hialino", ainda que talvez não significativamente.

*Tityus bahiensis*
(via venosa)

Fator de diluição das soluções de veneno opalescente: 1,468. 7 séries de experiências com 5 camundongos cada série.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,0009 miligramas numa experiência e 0.002 miligramas numa segunda titulagem.

Verificam-se aqui dois fatos: a) O veneno opalescente já é mais uniforme em sua ação sôbre camundongos do que foi o veneno "hialino", que mostrara diferenças nas duas titulações que variavam entre 2 e 11 gamas; b) o veneno "leitoso" é significativamente mais ativo do que o "hialino".

*Tityus serrulatus*
(via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha sêca, proveniente do veneno opalescente, igual a 1,468.

7 séries de dosagens com 5 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,0009 miligramas numa titulação e 0,0014 miligramas numa outra.

A inoculação parenteral do veneno de *T. serrulatus*, nesta fração de peçonha, é, portanto, pràticamente igual à injeção intravenosa.

*Tityus bahiensis*
(via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha sêca, proveniente da fração opalescente: 1,468.

7 séries de dosagens com 5 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,002 miligramas numa titulagem e a 0,004 miligramas numa outra por grama de animal.

Nesta espécie a dose subcutânea, si bem que não seja igual à intravenosa (como acontece na peçonha opalescente de *T. serrulatus*), aproxima-se, contudo, bem de perto da mesma, sendo 2 vezes mais elevada.

3. *Titulação da $LD_{50}$ do veneno sêco, proveniente da peçonha leitosa.*

*Tityus serrulatus*
(via venosa)

| Dose mg. | Camundongos | | | Acumulação dos resultados | | | % de mortalidade |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | total | vivos | mortos | vivos | mortos | total | |
| 0,0046 | 10 | 7 | 3 | 9 | 3 | 12 | 25 |
| 0,068 | 10 | 2 | 8 | 2 | 11 | 13 | 85 |
| 0,01 | 5 | 0 | 5 | 0 | 16 | 16 | 1000 |
| 0,015 | 5 | 0 | 5 | 0 | 21 | 21 | 1000 |
| 0.21 | 5 | 0 | 5 | 0 | 26 | 26 | 1000 |
| 0,032 | 5 | 0 | 5 | 0 | 31 | 31 | 1000 |
| Fator dil. 1,468 | 40 | 9 | 31 | 11 | 108 | 119 | $LD_{50}$ - 0,0059 mg. |

Dose 50% mortal por grama de camundongo = 0,0003 mg.

Numa segunda titulagem do mesmo veneno leitoso, pelo mesmo processo, chegamos à dose 50% mortal por grama de camundongo = 0,0005 mg.

*Tityus bahiensis*
(via venosa)

Fator de diluição da peçonha sêca, proveniente de veneno leitoso = 1,468.

6 séries de 10 camundongos cada.

Resultado: — $LD_{50}$ por grama de camundongo = 0,0005 miligramas numa titulagem e 0,00065 miligramas numa segunda.

A peçonha sêca, obtida do veneno liquido, de aspecto leitoso e que corresponde às últimas goticulas da extração manual ou elétrica, constitúi em *T. serrulatus* e *T. bahiensis* o tipo de peçonha sem dúvida mais ativo e mais uniforme em sua ação.

A não existência de uma diferença significativa entre as titulações repetidas caracterizam a uniformidade em cada amostra. Interessante é igualmente o fato de que êstes venenos têm quase o mesmo grau de atividade nas duas espécies escorpiônicas, ainda que a peçonha de *T. serrulatus* pareça um pouco mais ativa.

*Tityus serrulatus*
(via subcutânea)

A mesma amostra de veneno, que forneceu uma $LD_{50}$ intravenosa igual a 0,0003 mg, deu, nas mesmas condições de trabalho e com o mesmo número de animais, uma dose 50 % mortal, por via subcutânea igual a 0,0003 mg.

A segunda amostra, com $LD_{50}$ venosa = 0,0005 mg deu titulagem, por via subcutânea = 0,00062 mg.

Verifica-se, portanto, que em *T. serrulatus*, no veneno leitoso, as $LD_{50}$ são as mesmas, tanto na veia como por via subcutânea.

*Tityus bahiensis*
(via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha "leitosa" = 1,468.

6 séries de 10 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal = 0,0007 miligramas numa titulagem e 0, 0009 miligramas numa segunda.

A mesma amostra de veneno que deu uma $LD_{50}$ venosa = 0,0005 miligramas forneceu 0,0007 miligramas como média mortal subcutânea; a de 0,00065 miligramas venosas deu 0,0009 miligramas por via subcutânea.

Há, novamente, portanto, uma grande concordância na atividade da peçonha de *T. bahiensis* de um lado nas duas vias de inoculação e do outro com a peçonha de *T. serrulatus*, apenas um pouco mais ativa mas que mal chega, a nosso ver, a ser significava.

## COMPORTAMENTO DOS CAMUNDONGOS

Nas 24 titulagens para verificação de $LD_{50}$ temos sempre anotado também o *tempo de morte* ou o tempo das crises de intoxicação, ou quando se começavam a verificar as melhoras e a recuperação completa.

Nas duas espécies de escorpiões êstes tempos ofereciam um perfeito paralelismo no seguinte sentido:

"Quando as doses eram acima das mortais, tanto na veia como subcutâneamente, e na medida que eram mais concentradas, os animais morriam já dentro de 1-2 minutos nas doses *venosas* altas, dentro de meia hora a duas horas e meia (quando logo acima de 50% mortal na *veia*) e dentro de 3 horas a 4 horas, quando em torno da 50% mortal *venosa*.

Passado êste tempo, isto é, depois de 3 ou 4 horas, já se iniciava a fase de recuperação, o que demonstra que, por via venosa, ambas as peçonhas escorpiônicas são de *eliminação rapidíssima*.

Por via subcutânea repetia-se o mesmo: morte já dentro de 15 a 30 minutos com doses bem concentradas, acima das letais 50%, dentro de 1 a 3 horas nas doses pouco acima das letais e dentro de 3 a 5 horas nas letais 50%, com o início de recuperação após 6 horas, com normalização completa já dentro de 8-10 horas.

Isto constitúi nova prova da rápida eliminação das peçonhas".

Pelo comportamento dos camundongos confirma-se um fato já sabido: o da ação da peçonha de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* sôbre o sistema nervoso central, principalmente. No princípio da intoxicação há uma *fase excitatória*, aliada à dôr. Os camundongos se tornam irascíveis, mordem-se, brigam, dão pulos para o alto com gritos agudos, isto principalmente nas injeções subcutâneas.

Como primeiro sinal sobrevêm então o eriçamento dos pêlos na nuca e lacrimejamento.

Depois vem a fase da *depressão cerebral*, cada vez mais generalizada e progressiva. O animal fica quieto; suores abundantes na nuca são constantes; perturbações visuais até cegueira total são a regra; os suores progridem ràpidamente e se estendem pelo corpo inteiro. O pulso se acelera; tremores gerais sobrevêm; paresias, primeiro das pernas posteriores e depois generalizadas; ataques de dispnéia e a posição de cabeça para baixo são a regra. A dispnéia

e os suores aumentam. Os animais parecem sufocar. Antes de sobrevir a morte, os suores são tão profusos que o animal parece ter sido emergido da água. Finalmente é esvasiada invariavelmente a bexiga e a morte se verifica por sufocação, instalando-se logo a rigidez tetânica.

A profusão dos suores é muito acentuada justamente com amostras de peçonha provenientes do veneno líquido *límpido*, ao passo que é menor com o veneno leitoso, ainda que o suor sempre exista na intoxicação escorpiônica.

Também a dôr parece ser menor com o veneno leitoso.

Como, por outro lado, tivéssemos constatado que é justamente a peçonha leitosa a mais ativa, impõe-se a suspeita de que haja no veneno dos dois escorpiões uma substância estranha, mais freqüente na fração chamada límpida. Esta substância parece incrementar a sudorese e aumentar a dôr, embora fosse menos tóxica do que a do veneno amorfo, granular.

De fato, o aspecto microscópico de uma goticula de veneno hialino, apresenta quadros completamente diferentes do veneno granular, amorfo (Fotografias).

É claro que, na prática, tanto na extração artificial da peçonha como por ocasião de uma picada, sempre se misturam as frações do veneno hialino, opalescente e leitoso, de maneira que a sintomatologia deve ser encarada como sendo conseqüência do conjunto.

Foram feitas necrópsias de diversos camundongos após a morte, retirando-se não sòmente partes do pulmão, do fígado, do intestino, da vesícula e do músculo, mas inspecionando-se ao mesmo tempo a zona da injeção subcutânea. Não foi verificado nada de anormal, confirmando-se a ação primordial da peçonha dos dois escorpiões sôbre o cérebro, como já foi descrito por muitos pesquisadores.

Eliminação rápida, ação pràticamente igual tanto por via intra-venosa como subcutânea, sudorese muito acentuada — são os característicos principais do envenenamento escorpiônico.

## DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Quanto à *obtenção dos venenos secos*, de pêso constante, conservados em dessecador escuro, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, quer pelo método da extração *manual* ou por excitação *elétrica*, cremos que tenhamos chegado a um resultado positivo. Positivo no sentido da *quantidade* e da *qualidade* e *bôa conservação*.

Quantitativamente falando é possivel armazenar durante mêses algumas centenas de miligramas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis*. Secando-se êstes venenos em vácuo e conservando-se os mesmos em escuro, no vácuo, sôbre clo-

r^to de cálcio. conservam seu aspecto de pó branco bem como tôdas as propriedades tóxicas.

É, pois, possível estocar-se as peçonhas, juntando a quantidade extraída cada quinzena ou cada 20 dias ao estoque. Nisto não é necessário separarem-se as chamadas frações hialinas, opalescentes e leitosas, mas pode estocar-se perfeitamente o veneno "in toto". No momento do uso para qualquer experiência ou imunização, basta dosar-se prèviamente a $LD_{50}$ em camundongos.

A estocagem do veneno sêco representa sem dúvida uma grande vantagem sôbre os métodos de conservarem-se os venenos escorpiônicos em *solução*. Vital Brazil (2) e H. Maurano (1) têm aconselhado soluções aquo-glicerinadas; Vianna Martins (5) empregava soluções fisiológicas com toluol e mais tarde com formol. Todos êles partiam sempre de triturados de glândulas inteiras, acentuando tanto Maurano (1) como Vianna (5) que a contaminação por germes aeróbios e anaeróbios e a conseqüente putrefação das soluções, constituiam um dos maiores empecilhos de qualquer trabalho mais exato sôbre as peçonhas escorpiônicas.

Vital Brazil (2) exige mesmo o preparo de veneno sêco para qualquer experiência mais acurada.

Já Belleme (1874), depois C. Phisalix e de Varigny (6), Calmette (1896) e entre nós H. Maurano (1) têm submetido os escorpiões à excitação elétrica e obtinham veneno. Entretanto, as quantidades de todos êles eram muito pequenas para qualquer estudo comparado em grandes séries de animais de experiência.

O estabelecimento exato da *atividade* da peçonha escorpiônica pela *titulação* $LD_{50}$ em animais de laboratório não está isento de dificuldades. Tendo-se um grande estoque de veneno sêco, pode determinar-se fàcilmente a dose 50% mortal para determinado grupo de animais (aconselhamos os camundongos pelo pouco pêso e pelas reações precisas), repetindo-se cada vez esta titulação, quando se assume um veneno diferente.

A questão, entretanto, muda de figura, quando se pretendem titular pequenas amostras de veneno, colhidas dos escorpiões para êste fim. Neste caso o veneno sêco "t o t a l", isto é, o obtido de tôdas as gotas, hialinas, opalescentes e leitosas, terá atividade diferente por exemplo do veneno hialino ou do leitoso, como se deduz pelas nossas determinações das doses 50% mortais com os diferentes tipos de peçonha.

Estas diferenças serão ainda mais acentuadas por via subcutânea do que na veia e variarão grandemente segundo a espécie.

Temos constatado que em *T. serrulatus* e em *T. bahiensis* as peçonhas sêcas provenientes das gotas leitosas, que apareciam na ponta do ferrão por último nas extrações, eram justamente as *mais ativas*. Viu-se igualmente que justamente estas frações eram as mais *constantes* em sua atividade, mesmo

quando eram de amostras e extrações diferentes. O mesmo não se dá com as frações *hialinas*, isto é, com o veneno sêco das gotas transparentes, que aparecem em primeiro lugar na extração.

É um veneno que varia bastante em sua atividade, principalmente no *T. bahiensis*, podendo ser numa amostra de 5-6 vezes mais ativa do que numa outra ou terceira.

Este fato está em contradição com o que foi constatado por Phisalix e de Varigny (6) que extrairam por excitação elétrica as peçonhas de *Prionurus australis*, separando em recipientes especiais as goticulas hialinas, as opalescentes e as últimas, leitosas e constataram que justamente as primeiras, hialinas, eram as mais ativas, com uma dose mínima letal subcutânea para cobaio, de 0,1 mg, enquanto que eram precisos 0,15 mg, para matar com o veneno leitoso.

Ou, empregaram poucos animais, e não chegaram a conclusões precisas pela mínima mortal, ou existem realmente diferenças biológicas no escorpião africano que o distingam das duas espécies do Brasil. Em todo caso, acharam os dois pesquisadores, em vista de seus resultados, que o último veneno do escorpião, o leitoso, era uma peçonha *ainda não amadurecida;* que ela tinha que estar em contato com o liquido dos canais eferentes das bolsas de veneno e amadurecer ai, dando então veneno limpido, maduro, ativo.

Em nossas experiências nas extrações repetidas já durante anos, chegamos à conclusão de que a fração que temos chamado de "opalescente" é realmente apenas intermediária entre o hialino e o leitoso, contendo elementos de ambos. Entretanto, estas duas extremas, devem conter, ao que nos parece, substâncias iguais umas e diferentes outras.

Nas fotomicrografias (veja no fim do trabalho) do veneno hialino vêm-se configurações na peçonha sêca que lembram a figuras cristalóides, enquanto que o veneno leitoso apresenta aspecto granular, homogêneo.

Quando ao pH diferem muito pouco êstes dois venenos, enquanto que a fração hialina é muito mais higroscópica do que a leitosa e se dissolve fácil — e completamente na água fisiológica — o que não acontece com a última. A suspensão aquosa desta apresenta-se fortemente opalescente quando em proporção de 1 mg de veneno sêco para 8 cm³ de água fisiológica. Submetendo-se a solução à centrifuigação, torna-se mais límpida, aparecendo um depósito relativamente volumoso.

Este depósito, após centrifugação demorada, perfaz, mais ou menos, a metade do pêso do veneno sêco leitoso e parece constar de elementos epiteliais e celulares, insoluveis em água e inativos.

Tomando-se em conta êste fato, então ressalta que o veneno escorpiônico, particularmente a fração derivada da leitosa, é ainda duas vezes mais ativa na dose 50% letal para camundongos, do que a referida por nós, pois não

tomamos em consideração o pêso dêste depósito, porque trabalhamos sempre, nas titulações, com 1 a duas miligramas. Assim as $LD_{50}$ das frações leitosas poderiam ser calculadas para *T. serrulatus* como sendo de 0.15 gamas a 0,3 gamas na veia e por via subcutânea e em *T. bahiensis* de 0.25 a 0,32 na veia e 0,35 a 0,45 gamas subcutâneamente por grama de camundongo.

Num acidente real por picada de escorpião, entretanto, é sempre arrojada em primeiro logar a fração hialina da peçonha. Quase sempre o aracnídeo tenta diversos golpes com seu dardo, de maneira que são injetadas também as frações opalescentes e, finalmente, as leitosas. Quanto maior fôr, portanto, o número de picadas, mais intenso será o envenenamento do acidentado, não sòmente em virtude da maior quantidade de peçonha arrojada mas também em razão dos diversos componentes ativos da peçonha total.

Sem querer divagar pelo terreno especulativo em casos de acidentes humanos por envenenamento escorpiônico, cremos poder afirmar que é quase sempre inoculada a peçonha total nos acidentes graves e de média gravidade.

Das titulações das frações hialinas e leitosas em camundongos ressalta também o seguinte: — Em *T. bahiensis* a $DL_{50}$ por via subcutânea é o dôbro da por via endovenosa e em *T. serrulatus* também quase o dôbro, no veneno hialino, ao passo que no leitoso as mesmas quantidades de peçonha são, aproximadamente, de potência igual por via venosa e por via subcutânea.

Quanto à *sintomatologia* do envenamento parece-nos que ambas as frações sejam igualmente atuantes sôbre o sistema nervoso central, sôbre o bulbo, com destruição bulbar e das funções vegetativas dos neurônios bulbares, como já foi demonstrado por diversos pesquisadores, como O. Magalhães (3).

A incrivel *rapidez de ação* bulbar, que já se verifica em camundongos dentro de alguns minutos, mesmo por via subcutânea, e no homem também dentro de 15 a 30 minutos (O. Magalhães), é comum às frações hialinas e leitosas, bem como a *eliminação rápida* pelo organismo e o restabelecimento à normalidade já dentro de algumas horas, quando as doses de peçonha forem subletais.

Observamos igualmente que os sintomas *dôr* e a *sudorese* dos camundongos eram os mesmos nas duas frações. Na sintomatologia humana elas já foram descritas minuciosamente por O. Magalhães, insistindo êste autor, em 1935, que existe no bulbo cerebral um centro de secreção sudorípara, na região do 4.º ventrículo bulbar e que êste é prejudicado em suas funções normais.

Não, sem razão, poder-se-ia, portanto, deduzir que provàvelmente existem as mesmas substâncias tóxicas nas frações hialinas e leitosas ou elementos diversos, mas com ação idêntica sobre o bulbo cerebral e com a mesma rapidez de ataque e eliminação.

Cremos também que existam as mesmas substâncias venenosas em ambas as frações ,mas estamos inclinados, além disso ,a suspeitar da presença de elementos diferentes, de igual ação cerebral (aspecto fotomicrográfico diferente das duas frações e do gráu de toxicidade diferente, principalmente na via subcutânea da fração hialina). Para avaliar devidamente esta nossa,opinião deve-se ter em mente que as titulações sempre foram feitas com veneno sêco, de pêso constante. No caso da fração hialina, portanto, correspondia o veneno sêco principalmente às configurações cristalóides da fotomicrografia, enquanto que o veneno sêco leitoso tem aspecto granular.

Este ponto precisa ainda de melhor estudo, também pelo lado químico e fisiológico.

Não queriamos abandonar êste capitulo sem estabelecer um quadro de *toxicidade comparada* entre os dois escorpiões do Brasil e outros representantes perigosos em outros continentes e paises, como *Centruroides gracilis, noxius, suffusus* e *limpidus* do México e *Buthus occitanus, B. quinquestriatus, Prionurus australis* e *amoreuxi* do Norte da Africa e Palestina.

De todas estas espécies, inclusive as nossas duas, constam documentadamente casos humanos fatais pelo envenenamento.

Infelizmente não possuimos dados sobre $DL_{50}$ % em camundongos ou outros animais de laboratório, feitos com veneno sêco, de pêso constante.

Apenas Tetsch, e Wolff, (7) titularam exatamente a peçonha de um escorpião da Siria, sem dizerem a espécie, com uma $DL_{50}$ % por grama de camundongo em torno de 0,9 gamas.

E. Sergent, estabeleceu em, 1935, as doses minimas mortais para camundongos, via subcutânea ,como sendo de 1 glândula em *Buthus occitanus*, 0,30 glândula em *Buthus arenicola* e 0,05 glândula em *Prionurus australis*. Já anteriormente houve dosagens da mínima letal. Segundo Calmette 0,5 mg de um escorpião africano mata um cobaio; segundo Kubota 0,015 mg de um escorpião mexicano mata um camundongo. Phisalix e de Varigny dão 0,1 até 0,2 mg de *Buthus australis* como suficientes para matar cobaio; enquanto que C. Phisalix consegue matar cobaios com doses que variavam entre 0,14 a 0,5 mg, estabelecendo como minima letal 0.1 mg.

Em *Buthus quinquestriatus* foi igualmente estabelecida a dose minima letal por kg de cobaio como sendo 0,1 mg.

Infelizmente, ou não foi identificada a espécie, ou não se dosava a mortal 50%, ou ainda não se empregava veneno sêco, de maneira que os dados acima não justificam em absoluto a afirmação de H. Maurano, de que a toxicidade de *T. bahiensis* (êle não conhecia ainda o *T. serrulatus* como espécie própria, embora tenha trabalhado com ela, misturando os dois venenos, provàvelmente), era fraca em comparação com a de *B. occitanus* e *B. quinquestriatus*.

## CONCLUSÕES

A peçonha de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* pode ser retirada manualmente ou por excitação elétrica cada 15 ou 20 dias, de escorpiões mantidos em viveiros.

Esta peçonha pode ser sêca facilmente em vácuo e guardada em estado de pó branco em vácuo, no escuro, sobre cloreto de cálcio, sem perda de atividade.

Com o veneno sêco podem-se titular as $DL_{50}$ %, mas é mistér repetir-se sempre a titulação tôda vez que se assume novo veneno, porque cada estoque, mesmo da mesma espécie, pode ter atividade um tanto diferente.

Para dosagens rigorosas e determinações exatas da atividade das peçonhas escorpiônicas recomenda-se colhêr em separado as gotículas límpidas e as últimas leitosas; secá-las à parte e titulá-las separadamente.

As $DL_{50}$ % de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* têm-se mostrado diferentes no veneno hialino e no veneno leitoso, menores no último e mais uniformes, maiores e mais discordantes no primeiro.

O *Tityus serrulatus* é, mais ou menos, duas vezes mais venenoso do que o *T. bahiensis* — fato êste que se deve principalmente à particularidade biológica de, em geral, o *T. serrulatus* ter muito menos veneno hialino do que o *T. bahiensis* e de inocular já na primeira aguilhoada veneno chamado opalescente (granular).

A inoculação de simples veneno limpido, hialino, como pode acontecer fàcilmente com *T. bahiensis* (com $DL_{50}$ % subcutânea para camundongos entre 4 a 25 gamas por grama) determina no homem, em geral, apenas dôr ligeira, mas não intoxicação grave.

As peçonhas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* são de rápida eliminação, devendo verificar-se as melhoras no homem já depois de 6 a 8 horas, via de regra, quando forem apenas arrojadas doses sub-letais.

Casos de morte de pessôa adulta por picada de *T. serrulatus* e ainda mais por *T. bahiensis* constituem raras exceções entre o número de acidentados, mas podem acontecer.

Para indivíduos de pouco pêso (crianças até 10 ou 15 kg) podem os acidentes escorpiônicos revestir-se de gravidade e terminar mesmo com a morte.

Dada a rapidez da ação da peçonha, deve-se instalar a soroterapia já dentro de meia a 1 hora, o mais tardar, nos casos graves, dada a irreversibilidade das lesões bulbares nas doses letais.

## RESUMO

Demonstra-se que, quando se extraem as peçonhas do *Tityus serrulatus* e do *T. bahiensis*, o aspecto das primeiras gotículas de veneno é de uma substância *transparente, hialina,* principalmente em *T. bahiensis.*

As goticulas seguintes têm aspecto mais *turvo, opalescente* e as últimas gôtas apresentam *aspecto leitoso* e são de consistência *espessa*.

Estas frações do veneno líquido podem ser separadas melhor na simples extração, feita à mão; na extração pelo choque elétrico elas se misturam, sendo o primeiro jorro, mais limpido, seguido por veneno leitoso.

No *T. serrulatus* muitas vezes já as primeiras gôtas têm aspecto opalescente.

Na secagem do veneno liquido em vácuo, sôbre cloreto de cálcio, obtêm-se dos 3 tipos de veneno um pó amorfo, esbranquiçado, com leve tonalidade para o amarelo. O pó proveniente do veneno hialino é muito higroscópico e dissolve-se fàcilmente em salina, enquanto que o proveniente do leitoso, espêsso, é bem menos solúvel em salina, sobrando mesmo uma bôa quantidade de substâncias não solúveis.

A ação dos dois venenos sobre o camundongo é *rapidíssima*. Quando injetados na *veia*, em quantidades acima de $LD_{50}$, sucumbem os animais já dentro de segundos, minutos ou nas primeiras 2 horas, conforme as diversas concentrações do veneno. Os sintomas são preponderantemente nervosos, cerebrais, com pronunciada hipersecreção das glândulas salivares, aumento da diurese, dispnéia e paresias. A sudorese, que principia na nuca, é invariàvelmente tão alta que os camundongos, ao morrerem, estão tão molhados que parecem ter saido de um banho geral. O tetanismo post mortem é imediato.

Os animais, com quantidades de peçonha abaixo da $LD_{50}$, têm sudorese menor ou mesmo só circunscrita à região da nuca e melhoram após 2 horas, normalizando-se completamente dentro de 4-5 horas.

Nas injeções subcutâneas repetem-se os mesmos sintomas de intoxicação como na veia. Como elemento novo acresce a sintomatologia da dôr, traduzida nos camundongos por irritabilidade, agressão mútua, pulos desordenados e gritos agudos, até que sobrevenha a prostração e sudorese, com dispnéia e paralisia progressiva. A morte é novamente muito rápida, ocorrendo dentro de 4 horas no máximo. Depois deste tempo os animais restabelecem-se aos poucos, estando normais depois de 7-8 horas.

E demonstrado ainda que, pelo menos nas frações que, por comodidade de expressão chamamos de leitosas, espessas, a $LD_{50}$ venosa não difere quase da $LD_{50}$ subcutânea, o que não soe acontecer com outros venenos animais, por exemplo, venenos de *Crotalus terrificus* ou das serpentes botrópicas.

O autor empregou na determinação de $LD_{50}$ o método descrito por Reed e Muench (4). De cada veneno sêco das duas espécies foram feitas desde 1951 até Maio de 1953 nada menos de 24 dosagens, 12 intravenosas e 12 subcutâneas. Os camundongos eram dos biotérios do Instituto e pesavam 20 gramas cada um.

Sem querer discutir a natureza do veneno sêco, foi êste separado em 3 porções, o proveniente das gotículas hialinas, transparentes, o proveniente de gotas opalescentes e o das gotas leitosas, brancas, espessas.

Cada uma desta 3 partidas foi injetada na veia e subcutâneamente, fornecendo as seguintes $LD_{50}$ por grama de camundongo:

| *T. serrulatus* | veia | subcut. | |
|---|---|---|---|
| | 1,2-1,6 gamas | 1,8-2,2 gamas | veneno limpido |
| | 0,9-1,1 " | 0,9-1,4 " | " opalescente |
| | 0,29-0,58 " | 0,3-0,62 " | " leitoso |
| *T. bahiensis* | | | |
| | 2,0-11,0 gamas | 4,0-25,0 gamas | veneno limpido |
| | 0,9-2,0 " | 2,0- 4,0 | " opalescente |
| | 0,5-0,65 " | 0,7- 0,9 " | " leitoso |

Dêstes protocolos pode inferir-se: 1.º que o veneno "leitoso" é o mais ativo nas duas espécies, não diferindo quase a dose venosa da subcutânea; 2.º que o veneno do *T. serrulatus* é, em linha geral, duas vezes mais ativo do que o do *T. bahiensis;* 3.º que na peçonha, proveniente da fração de aspecto límpido, transparente (mais comum em *T. bahiensis*) a $LD_{50}$ subcutânea é geralmente o dôbro da $LD_{50}$ venosa e que esta última fração, principalmente em *T. bahiensis*, está sujeita a graduações de intensidade de ação bem marcadas (4 gamas até 25 gamas subcutâneas ou 2 gamas e 11 gamas venosas).

Demonstra-se ainda que as diferenças na $LD_{50}$ são menores em *T. serrulatus* do que em *T. bahiensis.* Não há diferença quase na chamada fração leitosa nas duas espécies. A diferença de atividade da peçonha escorpiônica, particularmente em *T. bahiensis*, corre por conta do chamado veneno límpido, hialino.

Tomando-se em conta as quantidades máximas, médias e mínimas, que podem ser injetadas numa picada por um dêstes escorpiões e que foram calculadas pelo autor, em outro trabalho, como sendo de 3 mg, 0.3 mg e 0 mg, respectivamente, então chega-se à conclusão de que, em vista das $LD_{50}$, êstes escorpiões poderiam matar até 7 ou 10 kg de camundongo, devendo considerar-se que o organismo humano é ainda mais sensível.

## ZUSAMMENFASSUNG

Nimmt man den beiden giftigsten Skorpionen Brasiliens, *Tityus serrulatus* und *T. bahiensis* das Gift ab, so erscheinen die ersten Tropfen meistens als

klare Flüssigkeit, die nächsten haben trübes Aussehen und die letzten sind milchig und zähflüssig.

Während das bei *T. bahiensis* fast die Regel ist, kommen bei *serrulatus* oft die ersten Tropfen schon trübe heraus.

Von beiden Arten wurden diese drei Giftflüssigkeiten getrennt abgenommen, dann im Vakuum getrennt getrocknet. Alle drei geben einen weisslichen Staub, der sich im Vakuum, über Kalziumchlorit sehr lange erhält, ohne seine Wirksamkeit zu verlieren.

Der Staub der klaren Giftflüssigkeit ist sehr hygroskopisch und lässt sich sehr leicht vollständig in physiologischer Kochsalzlösung lösen, während der des milchigen Giftes viel weniger löslich ist und fast die Hälfte seines Gewichtes als unlöslicher Rückstand abzentrifugiert werden kann.

Beide Trockengifte zeigen eine äusserst schnelle Wirkung auf die Mäuse. Bei intravenöser Verabreichung sterben die Tiere schon in Sekunden, Minuten oder innerhalb zwei Stunden, jä nachdem die Giftmengen über der Dosis laethalis media (LD 50 %) liegen. Die Vergiftungserscheinungen liegen ausgesprochen im Gehirn (Nervengifte), mit zunehmender Steigerung der Speicheldrüsen und Schweissdrüsentätigkeit (deren regulierende Zentren im Gehirne liegen). Blindheit, Tränenfluss, Nackenlähmung, Dispnöe und Atmungslähmung treten dann auf, bis der Erstickungstod die nun ganz von Schweiss gebadeten Tiere erlöst. Nach dem Tode tritt eine vollkommene tetanische Rigidität ein.

Erhalten die Tiere kleinere, unter der 50 prozehntigen tödlichen Menge liegende Dosen, bleibt der Schweissfluss meist nur auf die Nackenregion beschränkt, mit mehr oder minderer Vergiftungsbeteiligung auf nervöser Basis und die Tiere erholen sich schon innerhalb von 2 Stunden und sind nach 4-5 Stunden wieder normal.

Bei subcutanen Injektionen wiederholen sich die gleichen Symptome, auch zeitlich, mit Todeseintritt innerhalb von Minuten bis spätestens 4 Stunden oder Erholung und vollständige Genesung nach 4 Stunden respektive 7-8 Stunden.

Bei den Skorpiongiften der beiden Arten konnten wir feststellen, dass die subkutane Verabreichung mengenmässig und zeitlich hinter der venösen Einverleibung kaum zurückbleibt, was als Neuheit unter den tierischen Giften zu bezeichnen ist, da doch bei den meisten Schlangengiften, zum Beispiel, die subkutanen Dosen oft das 4-6 fache der intravenösen sein müssen, um die gleichen Vergiftungserscheinungen hervorzurufen.

Zur exakten Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis ($DL_{50}$) wandten wir weisse Mäuse an. Alle von 20 Gramm Gewicht. Die Lösungen wurden intravenös und subcutan gespritzt, intravenös mit je einem halben Kubikzentimeter und subcutan mit drei zehntel.

Sowohl bei *T. serrulatus* als auch bei *T. bahiensis* wurden die transparenten, die trüben und die milchigen Gifte getrennt im Vakuum getrocknet und von jeder so gewonnenen Giftart je drei Lösungen hergestellt (mit physiologischer Kochsalslösung).

Seit 1951 bis Mai 1953 wurden so von jeder Giftart je 12 Dosierungen vorgenommen, intravenös und subcutan, zusammen 24 Dosierungen. Jede Dosierung basierte auf 7 Verdünnungen der Stammlösung und bei jeder Verdünnung wurden 5-10 gleichschwere Mäuse benutzt, also 35 bis 70 Mäuse pro Versuch.

Die Ergebnisse der Titulierung der $LD_{50}\%$ sind pro Gramm Maus:

| *T. serrulatus* | Intravenös | subcutan | Giftart | |
|---|---|---|---|---|
| | 0,0012-0,0016 mg | 0,0018-0,0022 mg | klares | Flüssigkeit |
| | 0,0009-0,0011 mg | 0,0009-0,0014 mg | trübe | " |
| | 0,0003-0,0005 mg | 0,0003-0,0006 mg | milchige | " |
| *T. bahiensis* | | | | |
| | 0,0020-0,0111 mg | 0,0040-0,0250 mg | klare | Flüssigkeit |
| | 0,0009-0,0020 mg | 0,0020-0,0040 mg | trübe | " |
| | 0,0005-0,0006 mg | 0,0007-0,0009 mg | milchige | " |

Aus der Tabelle kann man ersehen: — 1°. Dass das Trockengift von der milchigen Fraktion, die als letzte bei der Giftentnahme erscheint, die wirksamste ist, wobei die venösen Mengen von den subcutanen kaum verschieden sind; 2°. Dass das Gift von *T. serrulatus* im allgemeinen 2 mal wirksamer als das von *T. bahiensis* ist; 3°. Dass das aus der klaren Flüssigkeit gewonnene Gift, besonders bei *T. bahiensis,* weit weniger einheitlich ist und dass subcutan eine doppelte Menge der intravenösen nötig ist zum gleichen Vergiftungseffekt; 4°. Je milchiger das Gift, um so einheitlicher und stärker, je klarer, um so schwächer.

Da wir in einer anderen Arbeit dargelegt haben, dass die maximalen, mittleren und minimalen Trockengiftmengen, die bei einem Stich eingespritzt werden können, um 3 mg, 0,3 mg und 0 mg liegen können, ist leicht zu ersehen, dass 7-10 kg Maus eventuell von einem Skorpion getötet werden können, dass also menschliche Todesfälle, besonders von Kindern von 10 bis 20 kg Gewicht, vorkommen können und auch tatsächlich sich ereignen. Todesfälle Erwachsener kommen vor, sind aber selten.

SUMMARY

It is shown that on extracting the venoms of *Tityus serrulatus* and *T. bahiensis* the first drops form a substance of transparent, *hyaline* aspect, principally in the case of *T. bahiensis*. The subsequent drops have a more turbid, *opalescent* appearance and the last drops of venom are *milky* and viscous.

These fractions of the liquid venom may best be separated by simple "manual" extraction; during the extraction by the "electric shock method" they get mixed generally, the first issue being clearer, followed by opalescent and milky venom.

With the *T. serrulatus* quite frequently even the first drops have an opalescent appearace.

By drying the liquid venom under vacuum, over calcium chloride, the 3 types of venom yield an amorphous whitish powder with a slight yellow tinge. The dry residue of the hyaline venom is very hygroscopic and dissolves easily in saline solution, whereas that from the milky, viscous venom is less soluble and leaves a considerable quantity of insoluble material.

The action of these two venoms on mice is extremely rapid. When quantities above the $LD_{50}$ are injected intravenously, the animals die within seconds, minutes or the first two hours, according to the various concentrations of the venom. The symptoms are nervous, cerebral, with pronounced hypersecretion of the salivary and lacrimaly glands, increased diuresis, dyspnoia and paresy. Sweating which begins at the neck becames unvariably so intense that the dying mice are so drenched as if they had just come out of a bath. Post mortem tetanism sets in immediately.

The animals with venom doses below the $LD_{50}$ showed a limited degree of sweating in the neck region only and recovered after two hours, with complete normalization within 4 to 5 hours.

On subcutaneous injections the symptoms of intoxication are the same as when the venom is administered intravenously. There enters, however, the symptomatology of pain as a new element which becomes evident by the irritability of the mice, their mutual aggressivity, disorderly leaps and shrieks, until they are overcome by prostration and sudoresis, dyspneia and progressive paralysis. Death follows rapidly within 4 hours at the utmost. Any survivors after this time recover gradually and become normal already after 7 to 8 hours.

It is further shown that, at least with the so-called milky, viscous venom fractions, there is hardly any difference between the intravenous and

subcutaneous $LD_{50}$, contrary to what is observed with other animal poisons, as for example with venoms from *Crotalus terrificus* or the bothropic snakes.

For determining the $LD_{50}$ the author used method described by Reed and Muench. Every batch of venom from the two species was submitted to not less than 24 evaluations, 12 by the intravenous and 12 by the subcutaneous route, between 1951 and May of 1953. The mice came from the animal rooms of the Instituto Butantan and had a weight of 20 g.

Without entering into a discussion about its nature, the dried venom was separated into 3 portions, one from the hyaline droplets, another from the opalescent drops and the third from the milky, viscous venom. Each of these 3 lots was injected intravenously and subcutaneously, giving the following $LD_{50}$ per gramme mouse:

| | *intravenous* | *subcutaneous* | venom type |
|---|---|---|---|
| *T. serrulatus* | 1,2-1,6 gammas | 1,8-2,2 gammas | clear venom |
| | 0,9-1,1 " | 0,9-1,4 " | opalescent venom |
| | 0,3-0,58 " | 0,3-0,62 " | milky venom |
| *T. bahiensis* | 2,0-11,0 gammas | 4,0-25,0 gammas | clear venom |
| | 0,9-2,0 " | 2,0- 4,0 " | opalescent venom |
| | 0,5-0,65 " | 0,7- 0,9 " | milkf venom |

From these results it may be concluded that: 1-the milky venom is the more active in both species, and its intravenous dose hardly differs from the subcutaneous one; 2- the venom of *T. serrulatus* is, on the whole, twice as active as that of *T. bahiensis:* 3- the subcutaneous $LD_{50}$ of the venom from the clear, hyaline fraction (which is more common in *T. bahiensis*) is usually twice as large as the intravenous $LD_{50}$, this venom fraction, especially in the *T. bahiensis,* being subject marked variations of intensivity (4 to 25 gammas subcutaneously or 2 to 11 gammas intravenously).

It is further shown that the difference in the $LD_{50}$ is smaller in *T. serrulatus* than in *T. bahiensis.* There is hardly any difference in the so-called milky fractions of the two species. The different activity of scorpion venom, particularly in *T. bahiensis,* may be attributed to the so-called hyaline clear fraction.

Considering the maximum, mean and minimum amounts which could be injected by the generally repeated stings of one of these scorpions and which had been calculated by the author, in another publication, as 3 mg, 0,3 mg and

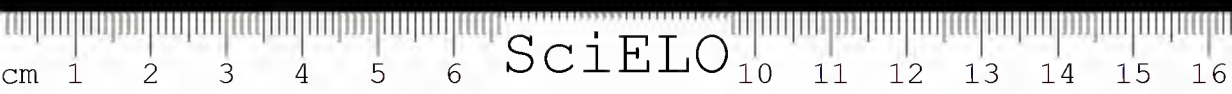
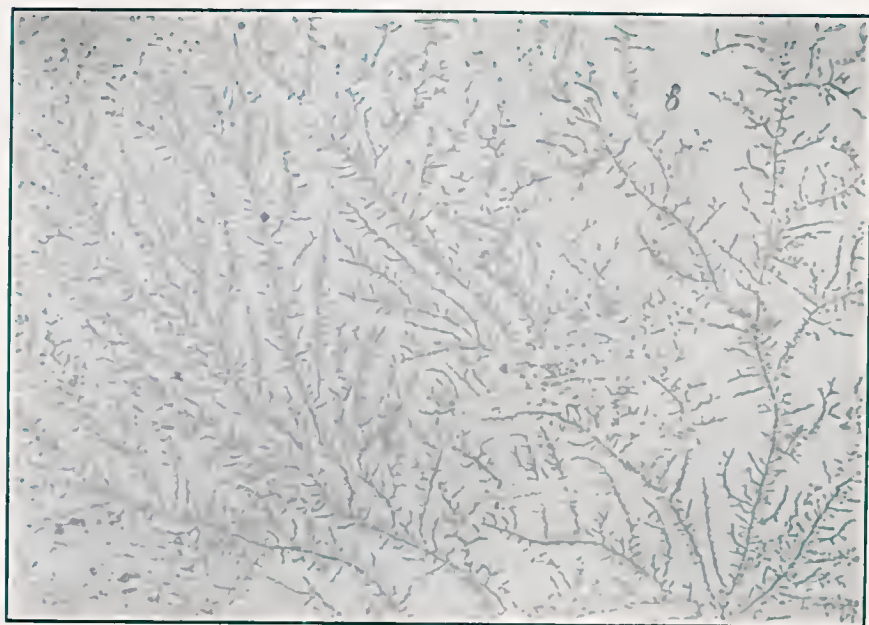
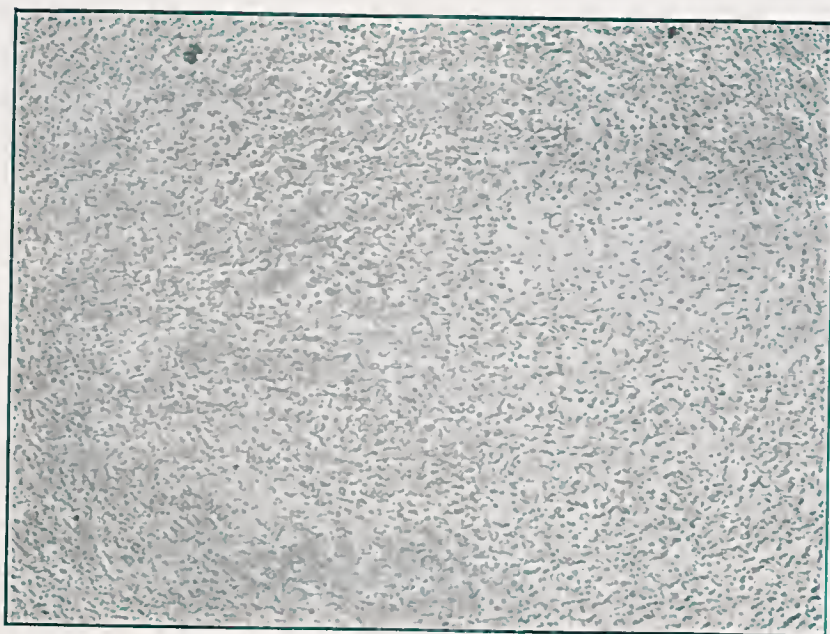
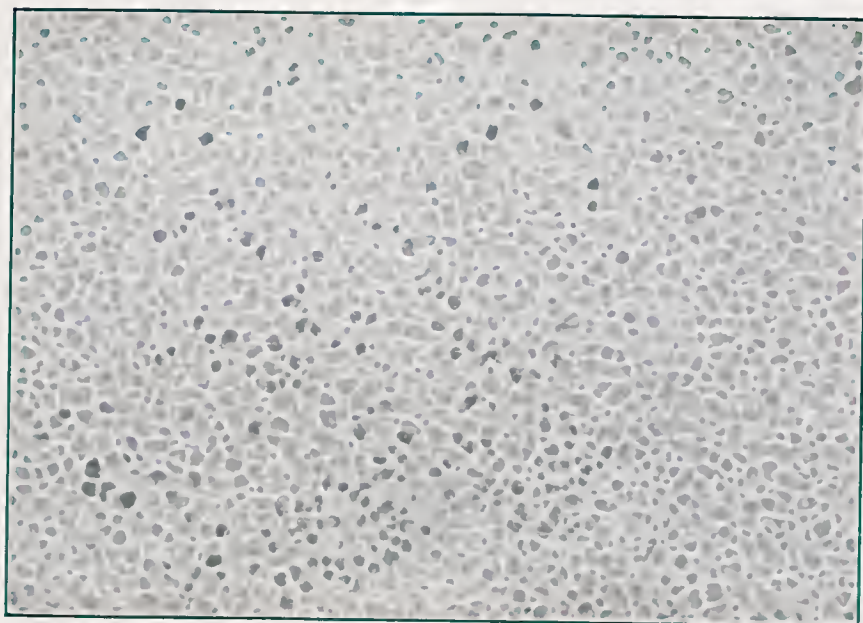
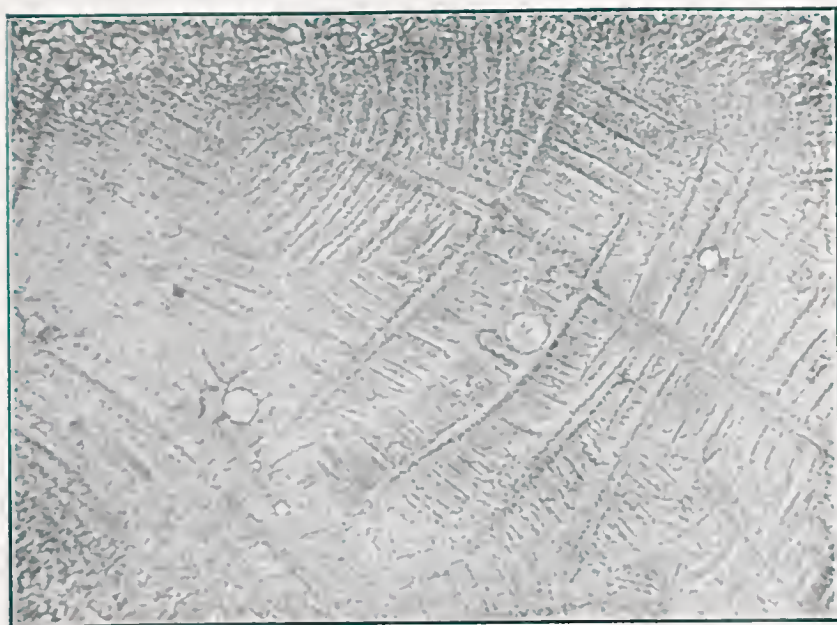
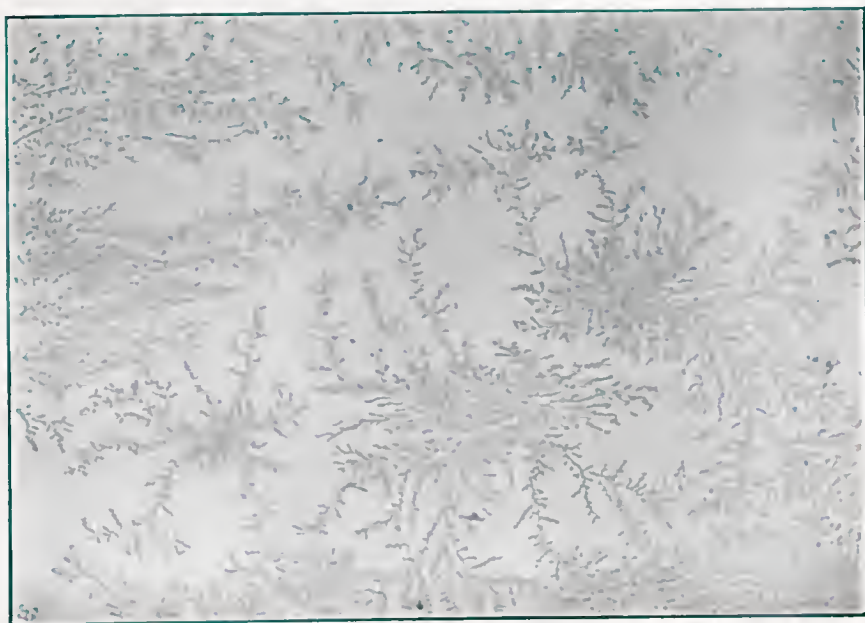
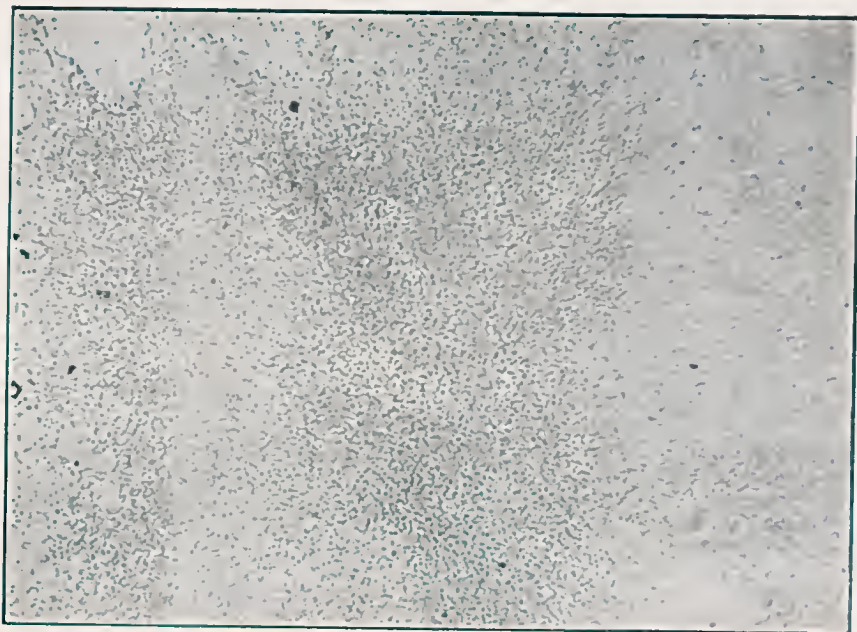
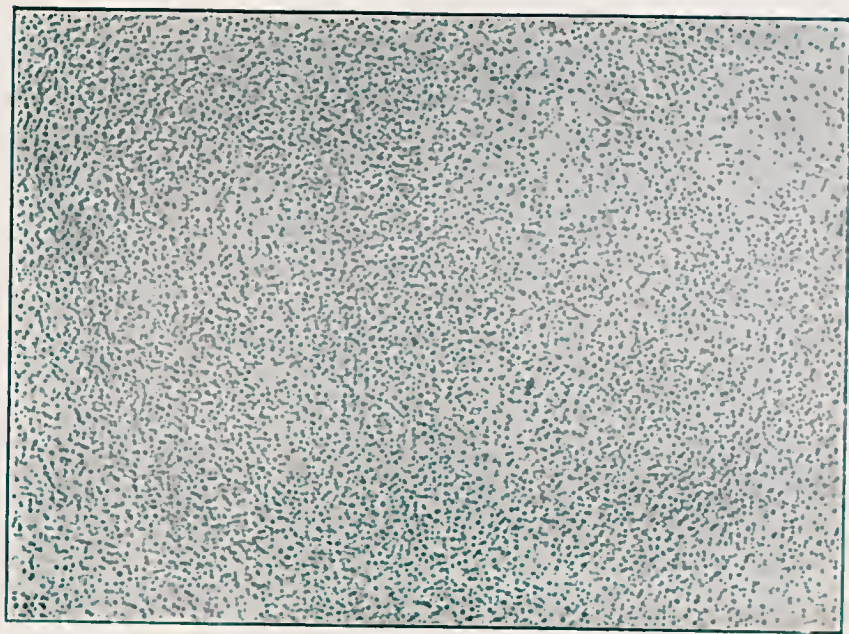
0 mg respectively, the conclusion may be drawn that in view of the $LD_{50}$ these scorpions are able to kill 7 or 10 kg of mouse, keeping in mind that the human organism is even more sensitive.

*Agradecimentos*: Agradecemos aos auxiliares do Laboratório de Animais Peçonhentos do Instituto Butantan a valiosa colaboração. O sr. José Navas, as srtas. Laurinda Pucci e Luzia Seabra ajudaram na alimentação e na retirada das peçonhas dos escorpiões; a srta. Nicolina Pucca prestou eficiente colaboração nas pesagens e nas titulações das peçonhas e o sr. Francisco Rocha Nobre colaborou nas necrópsias e nos cortes histológicos dos animais mortos pelo veneno escorpiônico. Ao sr. Seixas, fotógrafo do Instituto, os nossos agradecimentos pelas fotomicrografias.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Maurano, H. — Do Escorpionismo*, Tese Fac. Med. Rio de Janeiro, 1915.
2. *Brazil, V. — Mem. apres. ao VI.º Congr. Brasileiro Med. e Cir., S. Paulo*, 1907; *Rev. Med. de S. Paulo* **10**: 385-390, 1907; *Mem. Inst. Butantan* **1**: 47-52, 1918.
3. *Magalhães, O. de — O Hospital* **21**: 709-723, 942; *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **21**: 5-155, 1928; *Anais Fac. Med. Belo Horizonte* **4**: 1-52, 1935; *ibidem* **1**: 69-111, 1929.

   *Magalhães, O. de & Tupinambá, A. — O Hospital* **17**: 77-95, 1940.

   *Magalhães, O. de & Guimarães, E. — Mem. Inst. Ezequiel Dias, Belo Horizonte*, **3-4**: 139-194, 1939-40.
4. *Reed, L. J. & Muench, H. — Amer. J. Hyg.* **27**: 493-497, 1938.
5. *Martins, A. Vianna — Brasil-Medico* **57**: 248-251, 1943.
6. *Phisalix, M. & De Varigny — Bull. Mus. Hist. Nat.* **2**: 67, 1866.
7. *Tetsch, Chr. & Wolff, K. — Biochem, Zeitschr.* **290**: 394-397, 1937.

Fotomicrografia. 1: — *T. bahiensis* — Veneno hialino (300 vezes)

Fotomicrografia, 2: — *T. bahiensis* — Veneno hialino, esfregaço — (300 vezes.)

Fotomicrografia 3: — *T. bahiensis* — Veneno leitoso (300 vezes)

Fotomicrografia 4: — Veneno leitoso (900 vezes)

Fotomicrografia 5: — *T. serrulatus* — Veneno hialino (300 vezes)

Fotomicrografia 5: — T *serrulatus* — Veneno hialino (300 vezes)

Fotomicrografia 6a: — *T. serrulatus* — Veneno leitoso (600 vezes)

Fotomicrografia 6: — *T. serrulatus* — Veneno leitoso (900) vezes)

Mem. Inst. Butantan
25(1):109-151, 1953



# QUILÓPODOS, ARANHAS E ESCORPIÕES ENVIADOS AO INSTITUTO BUTANTAN PARA DETERMINAÇÃO

WOLFGANG BÜCHERL
(Laboratório de Zoologia Médica, Instituto Butantan).

Nos últimos anos foi recebido pelo Instituto Butantan copioso material, conservado em meio alcoólico, para ser determinado, devolvendo-se as duplicatas (conforme a praxe) e retendo-se para as colecções do Instituto as restantes.

Antes de enumerarmos estas preciosas remessas, queremos consignar nossos agradecimentos aos seguintes remetentes:

Professor Dr. *Wolfang Weyrauch*, de Lima, Perú, que nos tem distinguido com repetidas remessas de Quilópodos e de escorpiões, de maneira que nos pudemos capacitar a julgar com maior acêrto sôbre a natureza da fauna quilopódica e escorpiônica do Perú, particularmente dos Andes peruanos.

Dr. *Helmut Sick*, da Fundação Brasil Central, pelas remessas de material do Alto Xingú, particularmente de Chavantina, do Brasil Central.

Professores *Paul Lédoux* e *Harald Sioli*, do Instituto Agronômico do Norte, em Belém do Pará, pelos envios quase que contínuos de aranhas, escorpiões, quilópodos e escutigeromorfos.

Aos colegas *Alphonse R. Hoge* e *José Manuel Ruiz* que, em duas excursões científicas, promovidas pelo Instituto Butantan e chefiadas por eles ou pelo Sr. *A. Hoge*, têm enriquecido as colecções do Butantan com abundante material aracnológico, incluindo quilópodos, escorpiões, aranhas, miriápodos, opiliões, etc.., provindo da região amazônica, desde a fóz do rio até a Colômbia, e das Guianas Francesas.

Professor *Dr. Otto Schubart* pelo abundante material, recolhido nos arredores de Pirassununga, Estado de São Paulo.

Família *Urban*, da Capital de São Paulo, que, com incansável esfôrço, tem trazido pessoalmente ao Instituto quilópodos, aranhas, escorpiões, colhidos tanto em Perdizes, Capital de São Paulo, como em Carapicuiba, dos arredores de São Paulo, de Cocaia e da Ilha de São Sebastião.

Entregue para publicação, 27.VIII.53.

Revmo. *Padre Daniel*, do Colegio San José, de Medellin, Colombia.

Professor Dr. *Max Biraben*, de Buenos Aires, Argentina, pela remessa de volumoso material quilopódico.

Prof. Dr. *Xavier Nietto*, México, pelo envio de numeroso material escorpiônico.

Professor Dr. *Max Vachon*, do Museu de História Natural de Paris, que tem enviado escorpiões da Argélia e de Marrocos.

Dr. A. *Rodrigues Gomes*, pelo envio de escorpiões da Colômbia.

Professores Drs. *José Lacerda de Araujo Feio* e *José C. M. Carvalho* que não sòmente puseram a nossa disposição o material do Museu Nacional, mas tâmbem nos possibilitaram o seu estudo no referido Museu.

Dr. *Avelino Barrio*, do Instituto Malbran, Buenos Aires, Argentina, pela remessa de aranhas e quilópodos.

Professores *Luis M. Carbonell* e *G. Marcuzzi*, de Caracas, Venezuela pela valiosa remessa de material quilopódico, escorpiônico e aracnológico da Venezuela, a ser estudado à parte.

## *LISTA DO MATERIAL*

1) COLEÇÃO ENVIADA PELO PROF. WOLFGANG WEYRAUCH, DE LIMA, PERÚ, EM 20 DE MARÇO DE 1951:

N.º 12.009: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.

Procedência: — Tarma, Perú.
W. Weyrauch leg. em 1-12-42, nas encostas dos Andes, a 3.000 m de altura.

3 machos e 2 fêmeas (3 exemplares devolvidos).

N.º 12.016: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl 1, 1943
2 exemplares (devolvidos)

*Brasilophora trimarmorata* Bücherl, 1950
2 exemplares (devolvidos)

*GEOPHILOMORPHA*
2 exemplares (não determinados)

*Otostigmus amazonae* Chamberlin, 1914
1 exemplar (devolvido)

Procedência: — Margens do rio Chusgon, afluente ocidental do Marañon; nos arredores de Huamachuco, a 2.300 m de altura.
W. Weyrauch legit.

N.º 12.010: — *Cormocephalus impressus glabrus* Bücherl 1. 1950
4 exemplares (devolvidos)
*Otostigmus bürgeri* Attems, 1903

Procedência: — Andahuaylas, Perú.
W. Weyrauch legit em 13-12-40, a 3.100 m de altura.

N.º 12.009: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl 1, 1943
8 exemplares (Col. Inst. Butantan)
*Cormocephalus impressus glabrus* Bücherl, 1950
1 exemplar (devolvido)
*Otostigmus bürgeri* Attems, 1903
1 exemplar (devolvido)

Procedência: — Tarma, Perú.
W. Weyrauch legit a 3.300 m de altura.

Sem N.º: — *Brasilophora trimarmorata* Bücherl, 1950
1 exemplar (devolvido)

Procedência: — Oxapampa, Perú.
W. Weyrauch legit em 1941, a 1.800 m de altura.

N.º 12.020: — *Otostigmus pococki* Kraepelin, 1903
1 exemplar (devolvido).

Procedência: — Huacspistana, ao longo do rio Charo.
W. Weyrauch legit em Junho de 1942, a 1.800 m de altura.

*Comentário*: — A borda posterior das coxopleuras é redonda, sem o apêndice obtuso, descrito por Kraepelin, em 1903.

N.º 12.027: — *Cormocephalus impressus* glabrus Bücherl, 1950
5 exemplares (1 devolvido e 4 na col. do Inst. Butantan, N.º 653)

Procedência: — Cajamarca, Perú.
W. Weyrauch legit a 2.800 m de altura.

*Comentário*: — Os exemplares se apresentam inteiramente verdes, inclusive antenas e pernas. Os 4 dentes das placas do coxosternum forcipular são pequeníssimos e unidos na base, salientando-se apenas as pontas. Quanto aos outros caracteres morfológicos, há completa concordância com *Corm. impr. glabrus*, descrito em 1950 e procedente da Cordilleira Azul, Perú.

Os valores mesurais dos artículos da última perna são as seguintes: — Prefêmur igual à tíbia ou ao último tergito; fêmur mais longo que o prefêmur e fêmur com excavação dorsal em forma de fossa.

N.º 12.018: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943
2 exemplares (1 devolvido).

Procedência: — Oxapampa, Perú.
W. Weyrauch legit em 20-9-1948, a 1.600, de altura.

N.º 12.030: — *Newportia monticola* Pocock, 1890
2 exemplares (1 devolvido)

Procedência: — Hacienda Chaquil, perto de Cajamarca, Perú.
W. Weyrauch legit em Março de 1942, a 3.150 m de altura.

N.º 12.005 — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943
3 exemplares (na coleção do Inst. Butantan, n.º 656)

Procedência: — Oxapampa, Perú.
W. Weyrauch legit, em 1-4-41.

N.º 12.008: — *Rhysida celeris andina*, subespecie nova

Procedência: — Vale de Chandemayo, Perú.
W. Weyrauch legit em 1. de Abril de 1942, a 200 m de altura.

*Exemplar-tipo*: — Colecção do Inst. Butantan, n.º 657.

*Diagnóstico*: — Comprimento total até 65 cm. Cabeça, tronco e pernas amarelos; tergitos lisos, brilhantes. Placa cefálica, sem sulcos, com a base coberta pelo 1.º tergito. Antenas com 20 artículos, sendo os primeiros *2 basais* completamente desprovidos de pêlos e o 3.º provido de pêlos apenas no terço distal.

Placas dentárias (Fig. 1) de estrutura morfológica irregular (parece tratar-se de anomalia). À esquerda, com 5 dentes, sendo o 5.º — o interno — bipartido na ponta, de maneira que seriam 6 dentes.

A placa direita é menor que a esquerda e não apresenta dentes. Ambas desprovidas dos sulcos basais, mas dotadas de uma corda, que nasce dentro de um póro. Coxosternum liso, sem sulco mediano.

Tergitos com dois sulcos paramedianos completos desde o 6.º. A partir do 3.º, já com dois curtos sulcos posteriores. Sòmente o 21.º tergito com carenas laterais nitidamente formadas; 20.º sem carenas; do 16.º ao 19.º com fracas carenas laterais anteriores. Os tergitos precedentes sem carenas.

Todos os esternitos com 2 curtos sulcos paramedianos anteriores, atingindo apenas um quarto do comprimento da respectiva placa; 21º esternito liso, sem sulco.

Com 2 esporões tarsais nas pernas 1 a 19; apenas 1 esporão no 20.º par.

21º segmento do tronco com apófise coxopleural bem curta, de ponta cônica, com apenas 1 espinho pequeno na mesma; sem espinhos laterais.

Prefêmur do último par de pernas sem espinhos. Última perna tão longa quanto os 5 últimos segmentos do tronco juntos, apresentando as seguintes medidas: prefêmur-5, 3mm; fêmur-5, 5mm; tíbia-4, 9 mm; tarso 1º-4, 4mm; tarso 2º-1,3 mm; garra terminal-0, 8 mm.

*Diagnóstico diferencial* entre *Rhysida celeris celeris* (Hum. & Sauss.), 1870 e *Rh. nuda* (Newport), 1845:

A presente sub-espécie é amarela, enquanto que as outras duas apresentam duas côres, a saber — o tronco em tonalidades azuis ou verde-oliváceas e pernas verde amareladas.

A morfologia das placas dentárias não poderá ser considerada pelas razões acima expostas.

Em *Rhysida n. nuda* existem carenas laterais sòmente no 21º tergito e em *Rh. celeris celeris* elas já começam a existir geralmente desde o 5.º ao 10º tergito.

Apófise coxopleural do ltimo segmento com 2 espinhos em ambas as subespécies, com 1 só em *Rh. c. andina.*

19.º par de pernas com 2 esporões tarsais na nova sub-espécie; com 1 só nas 2 outras.

Último par de pernas muito longas na subespécie nova, bem mais curtas nas duas já conhecidas.

N.º 12.006: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943
2 exemplares (devolvidos)

Procedência: — Canta, Perú.
W. Weyrauch legit em 26 de Janeiro de 1939, a 3.100 m de altura.

N.º 12.007: — *Otoryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943
5 exemplares adultos e 1 filhote (devolvidos).

Procedência: — Recuay, perto de Huaraí.
W. Weyrauch legit em Maio de 1941, a 3.400 m de altura.

N.º 12.015: — *Cormocephalus impressus glabrus* Bücherl, 1950
6 exemplares (3 devolvidos).

Procedência: — Huamachuco, ao longo do rio Chusgon, afluente de Marañon.

*Otostigmus scabricauda* (Humb. & Sauss.), 1870.
2 exemplares da mesma procedência (na coleção do Inst. Butantan).

*Diagnóstico*: — Os esternitos apresentam 6 escavações redondas, pequenas, 3 anteriores e 3 posteriores — o que viria aproximar ou mesmo identificar estes exemplares com a espécie *O. rex*, Chamberlin, 1914. Entretanto, *O. rex*, passa, como já afirmara C. Verhoeff, a constituir apenas a fêmea de *Otostigmus scabricauda*. (Ver — "Quilópodos da Venezuela" — Mem. Inst. Butantan, 22-193, 1950).

Sem N.º: — *Newportia paraensis* Chamberlin, 1914?
1 exemplar (Colecção do Inst. Butantan).
Procedência: — Contumaza, Perú.
W. Weyrauch legit a 2.300 m de altura.

*Diagnóstico*: — Na face ventral do prefêmur, do último par de pernas, existem 4 espinhos obtusos, robustos, sendo o basal o maior; no fêmur há 2 espinhos. O 2.º tarso consta apenas de 2 artículos, não havendo garra terminal.

Na placa cefálica há 2 curtos sulcos posteriores. O 1º tergito apresenta um sulco em forma de "W", que não progride além da fossa semi-circular.

Os poucos artículos do último segundo tarso aproximam êste exemplar da espécie *N. paraensis*. Entretanto, êste diagnóstico não é seguro, devendo esperar-se maior número de exemplares para elucidar bem a espécie.

N.º — 10.062: — *Otohryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
4 exemplares (2 devolvidos)
Procedência: — Huaraz, no vale de Santa.
W. Weyrauch legit em Fevereiro de 1942, a 2.800 m de altura.

*Diagnóstico*: — Coxosternum forcipular com 2 dentes laterais pontudos (como em *parcespinosus* ou em *riveti*) e no meio um maciço dentário agudo também, mas muito menor do que em *soucupi*. Último esternito bem mais longo do que largo, enquanto que em *soucupi* esta placa é mais larga que longa.

Apófise das coxopleuras longa, excedendo muito o nível pleural-o que distingue êstes exemplares nitidamente de *soucupi*.

A identificação definitiva fica condicionada ao recebimento de um maior número de exemplares.

Sem N.º (com rótulo impresso): — *Rhysida celeris celeris* (Humb. & Sauss.), 1870?
2 exemplares, filhotes, bastante danificados.
Procedência: Vale Chanchamayo, Perú.
W. Weyrauch legit, em Maio de 1940, a 3.000 m de altura.

O diagnóstico não foi possível ser feito com segurança por causa da má conservação dêste lote.

N.º 12.013: — *Otostigmus amazonae* Chamberlin, 1914.
3 exemplares (2 devolvidos).
W. Weyruach legit em 1939, num ninho da *Alta sexdens.*
Procedência: — Matucana, ao longo do rio Rimac.

*Diagnóstico*: — Apenas os dois primeiros pares de pernas com 2 esporões tarsais, enquanto que em *O. amazonae* há 2 esporões nos 5 primeiros pares de pernas. Quanto ao resto, completa concordância com esta espécie.

N.º 12.029: — *Otostigmus scabricauda* (Humb. & Sauss), 1870.
1 exemplar (Colecção do Instituto Butantan N.º 663).
Procedência: — Entre Cajamarca e Celendim, sôbre a cordilheira.
W. Weyrauch legit a 2.300 m de altura.

N.º 12.028: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
6 exemplares (2 devolvidos, 4 na Col. do Inst. Butantan, N.º 664).
Procedência: — Entre Cajamarca e Celendim, Perú.
W. Weyrauch legit em Março de 1942, a 3.600 m de altura.

2) COLECÇÃO ENVIADA PELO PROFESSOR MAX VACHON, DO MUSEU DE HISTÓRIA NATURAL DE PARIS, COMPREENDENDO ESCORPIÕES DA ÁFRICA (enviada ao Instituto Butantan em Fevereiro de 1951):

*Colecção escorpiônica do Instituto Butantan*

N.º 612-613: — *Androctonus australis* (L.), 1758 ............ 3 exemplares
Algeria Meridional
Edmond Sergent, Instituto Pasteur da Algeria, 16-11-50.

N.º 615-617: — *Androctonus amoreuxi* (Sav.), 1827 ........ 3 exemplares
El Galea, Algeria
Edmond Sergent, 16-11-50.

N.º 618: — *Androctonus hoggarensis* (Pallary), 1929 ...... 1 exemplar
Air-África Oriental Francesa, 16-11-50.

N.º 619: — *Androctonus mauretanicus* (Charnot et Faure, Pallary), 1925 ............................ 1 exemplar
Marrocos Central
Edmond Sergent, 16-11-50.

N.º 620: — *Adroctonus aeneas aeneas* C. L. Koch, 1839 ...... 1 exemplar

Bon Sdada, Algeria
Edmond Sergent, 16-11-50.

N.º 621-623: — *Buthus atlantis atlantis* Pocock, 1889 ........ 3 exemplares

Magador-Marrocos, 16-11-50.

N.º 624: — *Buthus maroccanus Birula,* 1903 ............... 1 exemplar

Rabat, Marrocos
Edmond Sergent, 16-11-50.

N.º 625-629: — *Buthus occitanus* (Amoreux), 1789 ........ 5 exemplares

Da região do Grande Atlas, Marrocos — 16-11-50.

N.º 630: — *Orthochirus innesi* Simon, 1910 ................ 1 exemplar

Ouargla, Algeria
Edmond Sergent, 16-11-50.

N.º 631: — *Compsobuthus werneri* (Birull), 1908 .......... 1 exemplar

Niafunke, Africa Oriental francesa, 16-11-50.

N.º 632-633: — *Leiurus quinquestriatus* (Hempr. & Ehrenb.), 1829 .................................. 2 exemplares

Egito superior, 16-11-50.

N.º 634: — *Buthacus arenicola* (Simon), 1885 .............. 1 exemplar

Sul de Tunisia, 16-11-50.

N.º 635: — *Euscorpius flavicaudis* (de Geer), 1778 ........ 1 exemplar

Ilha de Corsica, 16-11-50.

N.º 636-637: — *Scorpio maurus* L. 1758 .................. 2 exemplares

Norte da Tunisia e Marrocos, 16-11-50.

3) NOVA COLECÇÃO, ENVIADA PELO PROFESSOR WOLFANG WEYRAUCH. LIMA, PERÚ, em 1. de Outubro de 1951:

ESCORPIÕES

N.º 10.067: — *Tityus bolivianus ecuadorensis* (Kraepelin), 1895.
6 exemplares (1 devolvido)

Procedência: — Lima, Perú, a 2.000 m de altura

N.º 10.269: — *Bothriurus coriaceus* Pocock, 1893 (1 exemplar devolvido).

N.º 10.066: — *Tityus bolivianus ecuadorensis* Krpln., 1895 (devolvido).

N.º 10.245: — *Hadruroides lunatus* (L. Koch), 1867.
32 exemplares (2 devolvidos).

Procedência: — Toda a região andina de Perú.

N.º F. C. 835: — *Tityus paraguayensis* Kraepelin, 1895.
2 exemplares (1 devolvido)

Procedência: — Chamchago, Perú.

N.º F. C. 825: — *Tityus bolivianus ecuadorensis* Krpln., 1895.
1 exemplar (devolvido).

N.º 824: — *Tityus trivittatus dorsomaculatus* (Lutz & Mello), 1922.
1 exemplar (devolvido).

N.º 828: — *Bothriurus paessleri* Kraepelin, (1910).
1 exemplar (devolvido).

N.º 725: — *Brachistosternus holmbergi* Carbonell, 1923.
4 exemplares macho e 4 fêmeas.
Procedência: — São Lourenço, Perú.
W. Weyrauch legit

## QUILÓPODOS

*Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
1 exemplar (Col. Inst. Butantan N.º 676).

Procedência: — Tarmatambo, Perú.

*Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
1 exemplar (devolvido).

Procedência: Paccha, ao longo do rio Manta, perto de Oroya, Perú.
W. Weyrauch legit, em 15 de Agosto de 1951, a 3.800 m de altura.

N.º 10.246: — *Otostigmus amazonae* Chamb., 1914.
5 exemplares (2 devolvidos, 3 na colecção quilopódica do Butantan)

Procedência: — Quebrada Verde, perto de Lima, Perú.
W. Weyrauch legit em Agosto de 1949.

*Diagnóstico* (Conf. N.º 12.013): — 2 esporões tarsais nos primeiros 5 pares de pernas. Esternitos com 2 sulcos anteriores que atingem a metade de cada

placa (como em *amazonae*), mas no meio dêstes uma depressão raza maior e mais 3 depressões muito leves ao longo da borda posterior de cada esternito (fig. 2) — o que não se verifica em *O. amazonae*. Todo o resto, entretanto, igual à *O. amazonae*.

Sem N.º: — *Cormocephalus impressus peruanus subsp.*

Tipo: — Coleção quilopódica do Instituto Butantan, N.º 683.

Procedência: — Cerro de Pasco, perto de São Rafael, Perú.
W. Weyrauch legit em Outubro de 1946, a 3.800 de altura.

*Diagnóstico*: — Comprimento ao redor de 50 mm. Todo o tronco, inclusive as pernas verde oliva. Antenas com pelinhos amarelo-doirados.

Últimas pernas com os artículos sempre menores de frente para tras. Apenas as garras terminais quase das dimensões dos 2 tarsos juntos.

Placa cefálica com dois sulcos posteriores, divergentes, que mal atingem a metade posterior (fig. 3).

Antenas num lado com 17 e no outro com 16 artículos, sendo os primeiros 5 basais largos e lisos, esverdeados. O 5º já apresenta pelinhos doirados na parte distal da face ventral; o 6º e o 7º também já têm pelinhos esparsos no lado dorsal.

Coxas forcipulares (fig. 4) com 2 sulcos, unidos na frente quase em ângulo agudo e que atingem mal a metade da placa; divergentes atras e atravessados horizontalmente por leves estrias sulcais, interrompidas em seu percurso. Placas dentárias com um bloco interno de 3 dentes soldados e mais um dente menor, externo, isolado.

1º ao 20º tergito com 2 sulcos paramedianos completos, mas sem quilha no permeio. 21º tergito com sulco mediano nítido. Sòmente êste com carenas laterais nítidas. Desde o 14º ao 20º existem carenas laterais nítidas, mas estas não atingem nunca a margem posterior dar placas.

Esternitos 2-20 com 2 sulcos paramedianos e no meio uma leve excavação, melhor visível nas placas anteriores. 21º esternito (fig. 5) com borda posterior em curva e com depressão central muito leve. Coxopleuras do último segmento (fig. 5) com borda posterior apenas levemente protraída em curva, apresentando apenas um espinho muito pequeno perto da ponta. Sem espinhos laterais. A área dos poros não alcança nem a margem superior, nem a posterior.

Prefêmur das últimas pernas com 0 a 2 espinhos muito pequenos no local do "espinho do canto" (Eckdorn). Sem espinhos nos lados ventral e interno.

Tergitos apenas com poros, mas não granulados; lisos. Garra terminal do último par de pernas bem mais longa do que o 2º tarso.

Sua face ventral afinada em lâmina cortante.

Prefêmur, fêmur e tíbia destas pernas com escavação dorsal, completa e profunda no fêmur, bastante rasa na tíbia.

*Diagnóstico diferencial*: — *Cormocephalus impressus impressus* Por. 1876: Com 2 sulcos na placa cefálica que atingem quase a margem anterior; 6-7 artículos basais das antenas sem pêlos; Coxosternum forcipular com 2 sulcos divergentes atras, mas completos, atravessando toda a placa; um só sulco horizontal no mesmo local, também completo, indo de margem a margem; com leve quilha mediana no meio dos 2 sulcos paramedianos dos tergitos; carenas laterais dos tergitos desde o 9º; com 2 espinhos na ponta das coxopleuras; prefêmur das últimas pernas com 2-6 espinhos ventrais e 2 no lado interno.

*C. i. i. var. neglectus* (Chamb.), 1914: já o 3º e 4º artículos basais das antenas apresentam alguns pêlos; todo o resto igual à *impressus impressus*.

*Cormocephalus impressus glabru* Bücherl, 1950: — Prefêmur e fêmur das últimas pernas do mesmo comprimento; 2º tarso mais curto que o 1º; coxosternum forcipular sem sulcos longitudinais ou transversais; com quilha leve no permeio aos 2 sulcos paramedianos dos tergitos; sem depressão mediana, anterior, entre os 2 sulcos dos esternitos; com espinhos pequenos na ponta das coxopleuras; com 6 espinhos ventrais em 3 filas no prefêmur 21º, na face ventral e mais 1 na interna.

Sem N.º: — *Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
1 exemplar (Col. Butantan N.º 684).

LITHOBIOMORPHA
3 exemplares (Col. Butantan).

*Cormocephalus impressus glabrus* Bücherl, 1950.
3 exemplares (2 devolvidos).

Procedência: — Canta, ao longo do rio Chilon, Perú.
W. Weyrauch legit.

Sem N.º: — *Newportia monticola* Pocock, 1890.
1 exemplar (Col. Butantan N.º 687).

Procedência: — Canta, Perú.
W. Weyrauch legit, a 2.800 m de altura.

É a primeira vez que se assinala a presença desta espécie no Perú, sendo conhecida até agora apenas da Colombia, do Ecuador e da Costa Rica.

*Diagnóstico*: — Coincide em tudo com *monticola*, com exepção do seguinte:

O 2º tarso das pernas ambulatórias não é bem distinguível do 1º, principalmente nas pernas anteriores; atras se torna mais nítida a separação. Tarso 2 do último par de pernas constando de 7 artículos distintos, sendo o 1º e o último do mesmo comprimento e o 3º e 4º mais curtos. 1º e 2º tarso destas pernas da mesma espessura. Campo poroso com poros grandes, nítidos, bem separados, não alcançando dorsalmente o tergito, mas no lado ventral cobertos pelo esternito. Apêndice coxopheural longo, contudo, com robusto espinho terminal. Prefêmur das últimas pernas com 4 espinhos enfileirados no lado ventral, sendo os basais os mais robustos. Sem outros espinhos. Fêmur com 2-3 espinhos na face interna.

N.º: — 837 — F. C. — *Otostigmus muticus* Karsch, 1884.
20 exemplares (14 Butantan N.º 689; 6 devolvidos).

Procedência: — Quebrada Verde, nos arredores de Lima, Perú.
P. Aguilar legit, em Maio de 1950.

*Diagnóstico*: — Coincide com *O. muticus*, com excepção do seguinte: — Tergitos posteriores não completamente lisos; ao longo das margens laterais "enrugados", com leve quilha mediana; carenas laterais já desde o 6º tergito. Os sulcos dos esternitos atingem tres quartos das placas e já estão presentes mesmo nos esternitos anteriores. Na área mediana uma depressão leve; com 2 esporões tarsais nos primeiros 4 a 6 pares de pernas (Cabe aqui retificar um senão da chave sistemática de Attems) (Das Tierreich 54. Lief.)

2. *SCOLOPENDROMORPHA*, Wien, 1930), à pagina 137, N.º 68, e que está em discordância com o que escreve o mesmo autor à pagina 163, onde descreve a *O. muticus*.

Sob o referido N.º 68 lê-se: — "Sòmente o 1º e 2º par de pernas com 2 esporões tarsais. Somente o 21º tergito com carenas laterais. Sulcos dos esternitos atingindo dois terços das placas — *O. muticus* (Perú)." Na página 163. é descrita minuciosamente esta espécie, como segue: — "Os primeiros 5-6 pares de pernas com 2 esporões tarsais. Carenas laterais dos tergitos já desde o 9º ou o 14º tergitos."

Cabeça vermelho-marrom, destacando-se êste colorido do tronco amarelado.

*Scolopendra armata amancalis* Bücherl, 1943.
1 exemplar (Butantan N.º 690.

Procedência: — Quebrada Verde, perto de Lima, Perú.

N.º 10.085: — *Brasilophora trimarmorata* Bücherl, 1950.
2 exemplares, machos (1 devolvido).
Procedência: — Santa Rosa, ao longo do rio Chinchipe, Perú.
W. Weyrauch legit, a 1.600 m de altura, em Julho de 1947

*Diagnóstico*: — Os dois exemplares vieram em condições de conservação um tanto precárias, de maneira que sua determinação não está de todo segura, ainda que não reste dúvida pertencerem ao gênero *Brasilophora*.

Os primeiros 9 artículos do *flagellum primum* das antenas mais longos do que largos. Daí em diante são tão longos quanto largos e a seguir mais largos do que longos, havendo, entretanto, um ou outro artículo no permeio mais longo que largo.

Nodale e postnodale presentes. Acúleos dos maxilares: — 2+4+2.

Os 2 tarsos das pernas estão separados por 2 acúleos.

1.º par de pernas com 20 "estiletes tarsais" (Tarsalzapfen), não alternados, isto é, ocupando em fileira dupla, o lado ventral dos artículos tarsais a começar do 10º basal até ao 30º distal, restando apenas 6 artículos apicais sem êstes estiletes.

*Otostigmus muticus* Karsch, 1884.
2 exemplares (devolvidos).
Pricedência: — Oxapampa, Perú.
W. Weyrauch legit, a 1.700 m de altura

*Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
1 exemplar (devolvido).
Procedência: — Oxapampa, Perú.
W. Weyrauch legit.

*Otocryptops ferrugineus soucupi* Bücherl, 1943.
1 exemplar (Coleção quilopódica do Butantan Nº 691).
Procedência: — Tingo Maria, Perú.
W. Weyrauch legit.

*Otostigmus muticus* Karsch, 1884.
13 exemplares (3 devolvidos e 10 filhotes na coleção do Butantan).
Procedência: — Quebrada Verde, perto de Lima, Perú.
Pedro Aguilar legit em Junho de 1950.

F. C. 839: — *Otostigmus* sp.
1 exemplar (colecção do Inst. Butantan, Nº 693).
Procedência: — Tingo Maria, às margens do rio Huallaga, Perú.
Ortiz de la Puente legit, como membro da Expedição da UNESCO ao Huallaga, a 670 m de altura, em 18 de Julho de 1948.

*Diagnóstico*: — Todo o exemplar amarelo oliváceo. Comprimento até 97 mm. (sem antenas e últimas pernas). Antenas com 17 artículos, dos quais os primeiros 2 sem pêlos e o 3º piloso já nos dois terços distais. Antenas longas alcançando a margem posterior do 3º segmento do tronco.

21º esternito com depressão longitudinal mediana, completa e com margem posterior bilobada.

A começar do 5º tergito existem 2 sulcos paramedianos completos, muito leves, mais nítidos na frente que atras. Em alguns tergitos êstes sulcos estão interrompidos no meio. A partir da segunda metade do tronco, há nos tergitos quilhas seriadas longitudinais, cobertas de espinhos também seriados. As quilhas são leves e pouco salientes; entretanto, nos últimos 4 tergitos, vêm-se nitidamente 3 quilhas entre as dobras longitudinais. Sòmente o 21º tergito com carenas verdadeiras; a partir do 4º tergito pseudocarenas, isto é, as margens laterais apresentam bordos salientes a simular carenas. Os primeiros 4-6 pares de pernas com 2 esporões tarsais; do 7º ao 20º apenas 1; 21º sem nenhum.

Esternitos com 2 sulcos muito curtos na margem anterior. Na segunda metade de cada placa há uma leve depressão, muito grande e dentro desta 3 excavações pequenas, oviformas, perto da margem posterior.

Medidas das últimas pernas: prefêmur 6,3 mm; fêmur 7,5 mm; tíbia 6,5 mm; tarso 1-6, 2 mm; tarso 2-3,0 mm.

4) MATERIAL ENVIADO AO INSTITUTO BUTANTAN PELO DR. HELMUT SICK, DA FUNDAÇÃO BRASIL CENTRAL, em 8 de Maio de 1951:

*Acanthoscurria geniculata* (C. Koch), 1842.

7 machos, 2 fêmeas, adultos e 2 filhotes (na Coleção aracnológica do Instituto Butantan .º 2603-2.612).

Procedência: — Jacaré, no Alto Xingú, Mato Grosso, ao oeste da Serra do Roncador.
Remetente: — Dr. Helmut Sick, da Fundação Brasil Central.

*Acanthoscurria geniculata* (C. Koch), 1842.

1 macho (Butantan N.º 2.609).

Procedência: — Chavantina, às margens do Rio das Mortes, M. Gr.
Dr. Helmut Sick legit em Julho de 1950.

*Eupalaestrus tenuitarsus* Bücherl, 1947.

1 exemplar (Nº 2.613 da coleção do Butantan).

Procedência: — Teles Pires, no Alto Tapajós, ao noroeste da Serra da Chapada, Mato Grosso.
Dr. Helmut Sick legit, em Agosto de 1950.

*Brasilophora trimarmorata* Bücherl, 1950.
1 exemplar.

Procedência: — Chavantina.
H. Sick legit em Outubro de 1946.

*Rhoda calcarata carvalho* Bücherl, 1941.
1 exemplar (Nº 651 da colecção quilopódica do Butantan).

Procedência: — Chavantina.
Helmut Sicv legit, em Dezembro de 1946.

5) MATERIAL DO INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE, BELEM, PARÁ:

a) Remessa de 4 de Maio de 1951:

*Scolopendra viridicornis viridicornis* Newp., 1844 — 1 exemplar;

*Brasilophora trimarmorata* Bücherl, 1950 — 1 exemplar;

*Plexippus paykulli* (Audouin), 1827 — 4 exemplares.

Prof. Paul Ledoux legit em Março de 1951, ao redor do I. A. N., Belém do Pará.

b) Remessa de 3 de Agosto de 1951:

*Tityus paraguayensis* Kraepelin, 1895 .......... 2 exemplares
*Isometrus maculatus* (De Geer), 1778 .......... 1 exemplar
*Tityus discrepans* (Karsch), 1879 .............. 2 exemplares
*Tityus amazonicus* Giltay, 1928 ................. 1 exemplar
*Avicularia avicularia variegata* F. Cambridge, 1896 2 exemplares.

Todo o material foi conservado nas colecções do Instituto Butantan.

Procedência: — I.A.N., Belém, Pará, Brasil
Professor aul Ledoux legit em Março de 1951.

*Phoneutria reidyi* (Cambridge) 1897 ............ 1 exemplar
*Lycosa sericea* E. Simon, 1898 ................. 1 exemplar
*Dysdera bicolor* Taczanowski, 1873 ............ 1 exemplar
*Heteropoda venatoria* (L.) ..................... 2 exuvias
*Menemerus bivittatus* (Dufour), 1831 .......... 6 exemplares
*Plexippus paykulli* (Audouin), 1827 ............ 4 exemplares

Material conservado nas Colecções do Instituto Butantan.

Prof. Paul Ledoux legit em 1951, nos arredores de Belém, Pará.

c) Remessa de 25 de Setembro de 1951:

*Tityus cambridgei* Pocock, 1897 ................ 1 exemplar vivo.

Capturado por P. Ledoux, nos arredores de Belém, Pará.

d) Remessa de 25 de Outubro de 1951:

*Tityus cambridgei* Pocock, 1897 ................ 1 exemplar;
*Ctenus griseus* Keyserling, 1891 ................ 2 machos
*Hasarius adamsoni* (Audouin), 1827 ............ 1 exemplar
*Avicularia avicularia* L., 1758 ................. 1 exemplar
*Brasilophora trimarmorata* Bücherl, 1950 ........ 1 exemplar

Material conservado nas colecções do Instituto Butantan.

Prof. Paul Ledoux legit, nos arredores de Belém, do Pará.

e) Remessa de 15 de Novembro de 1951:

*Tityus cambridgei* Pocock, 1897 ................ 5 exemplares
*Tityus paraguayensis* Krpln. 1895 .............. 2 exemplares
*Isometrus maculatus* (De Geer), 1778 .......... 1 exemplar
*Tityus amazonicus* Giltay, 1828 ................ 1 exemplar e 2 filhotes.
*Scolopocryptops miersii puruensis* Bücherl, 1941 .. 1 exemplar
*Avicularia a. avicularia* L. 1758 ................ 3 exemplares
*Ischnocolis* sp. ................................ 1 exemplar
*Micrathena schreibersii* (Pertty), 1833 .......... 1 exemplar

Do lote faziam parte mais 25 aranhas verdadeiras, pequeníssimas, de gêneros diferentes, não determináveis com segurança.

Procedência: — Arredores de Belém, do Pará, Brasil.
Prof. Paul Ledoux legit.

f) Remessa de 21 de Junho de 1952:

*Tityus cambridgei* Pocock, 1897 ................ 1 adulto e 18 filhotes
*Lasiodora* sp. ................................ 1 exemplar
*Avicularia a. avicularia* L., 1758 ................ 2 exemplares
*Heteropoda venatoria* L., 1758 ................ 1 exemplar

Procedência: — Belém do Pará, Brasil.
Prof. Paul Ledou legit, no I.A.N.
Material trazido ao Butantan pelo prof. Moreira.

g) Remessa de 12 de Janeiro de 1953:

Remetente — Dr. Harald Sioli, Instituto Agronômico do Norte, Belém do Pará, Brasil.

*Selenops spixii* (Perty), 1830 .................. 1 exemplar; macho.

Colhido por H. Sioli, em 1952, nos terenos do IAN, Belém, Pará.

*Vectius niger* (Simon), 1880 .................. 1 exemplar.

Colhido em Maio de 1951, por H. Sioli, em Belém.

*Otostigmus amazonae* (*OTOSTIMGINAE*), Cchamberlin, 1914, 2 exemplares.

(colhidos por H. Sioli nos terrenos do IAN, Belém, Pará.

*Pseudidiops* sp.

Exemplar apanhado por H. Sioli, em Março de 1952, nos terrenos do IAN, Belém do Pará.

*Caracterização*: — "Tarsos desprovidos de tufos subungueais de pêlos de sustentação. Tarsos com 3 unhas; as 2 maiores apenas com 1 dente, mas tão grande quanto a 3.ª unha. Lábio móvel, separado do esterno por sutura nítida; fiandeiras curtas; quelíceras com rastelo."

Esta caracterização coloca a presente caranguejeira claramente na família CTENIZIDAE, formada de espécies *terrícolas*.

"8 olhos, formando 2 grupos distintos e distantes, 2 colocados na borda anterior da fronte e 6 dispostos em 2 filas num cômoro."

Esta separação em 2 grupos oculares identifica o exemplar como pertencente à subfamília IDIOPINAE.

"Os 2 olhos laterais, anteriores se acham colocados igualmente sôbre um tubérculo bem elevado, bilobado em frente, com franca posição anterior dos mesmos."

O cômoro ocular anterior, bilobado e elevado, é característico do gênero *Pseudidiops*, Simon, 1889.

Refere C. Mello-Leitão, em 1923, que desconhece êste gênero em natureza, fornecendo, em seguida, apenas a tradução da espécie *Pseudidiops rostratus* (Cambridge), 1889, aliás mal delineada pelo autor e tida até 1923 como a única espécie brasileira do gênero.

Cremos, portanto, ser útil, fornecer do exemplar de Belém uma caracterização morfológica mais detalhada:

"Lábio apenas com 10 cúspides marginais anteriores e mais 9 na parte central, distal (fig. 6). Lábio nitidamente mais largo que longo, com a frente redonda. As cúspides centrais maiores.

Ancas dos palpos inteiramente cobertas por numerosas cúspides (fig. 6), sendo maiores as anteriores, bem mais avantajadas ainda do que as maiores do lábio.

Esterno piloso, com as margens laterais enegrecidas, tão longo quanto largo e com 2 pares de sigilas sub-marginais, correspondentes ao 1.º e 2.º par de pernas e equidistantes da margem (fig. 6).

Rastelo das quelíceras bastante proeminente, terminando em 5 pontas, formadas por grupos de espinhos robustos.

Olhos laterais anteriores um pouco maiores que os médios anteriores, situados num cômoro próprio, tão elevado quanto o dos outros 6 olhos e bífido, assentando-se cada ôlho numa saliência própria (fig. 7). Olhos laterais posteriores e médios anteriores aproximadamente com as mesmas dimensões; os médios redondos e os laterais ovais. Médios posteriores quase 3 vêzes menores que os laterais posteriores, contíguos a êstes (separados menos de 1 diâmetro). Uma linha imaginária, reta, tangente à borda anterior dos médios posteriores passaria no meio dos laterais posteriores. Segundo cômoro ocular mais largo que longo (fig. 7).

Cefalotorax côr de chocolate, glabro, com muito poucos pêlos. Fóvea torácica em forma de fenda. Quelíceras e pernas da côr do cefalotorax, igualmente glabros e brilhantes. Esternito e ancas das pernas, no lado inferior, também mais ou menos glabros, com tonalidades para o amarelo marrom.

O 4º par de pernas é o mais longo (fêmea), seguido pelo 1º e 3º, sendo o 2º o mais curto.

Abdomen côr de cinza escuro; ventre cinza amarelado.

Apenas com 4 fiandeiras (fig. 8); as 2 inferiores muito pequenas, bem afastadas na base. As superiores muito maiores, trisegmentadas."

Cambridge-Proc. Zool. Soc. London, pag. 250, 1889, refere de *Pseud-idiops rostratus*, que as fiandeiras superiores seriam apenas bi-articuladas-o que viria a constituir um fato curioso, insólito mesmo.

*Ps. rostratus* foi colhido do Estado da Bahia e parece bem diferente do exemplar de Belém. Cremos mesmo que se trate de uma espécie nova para a ciência, carecendo, entretanto, de confirmação com material mais abundante, machos e fêmeas.

Gostariamos de propôr desde já o nome *Pseudidiops siolii*.

O exemplar se encontra na colecção aracnológica do Instituto Butantan, sob o N.º 3.123.

*Avicularia avicularia* (L.), 1758, 3 exemplares, machos.

colhidos por P. Ledoux na região da várzea do rio Guama, em junho de 1951 e depositados no Butantan, N.c 3.126; 3.127 e 3.128.

*Acanthoscurria* sp. 1 fêmea bem curiosa e completamente diferente das espécies conhecidas e descritas.

Colhida por H. Sioli, em 4-2-41, perto da localidade Tres Casas, às margens do Madeira.

*Avicularia* sp., 1 macho.

Colhido por H. Sioli, de dentro de uma canôa, no rio Aruã, em 31-5-52.

26 mm de comprimento total. Cefalotorax 11:11 mm.

Pernas anteriores e posteriores das mesmas dimensões. O 2º par mais curto e o 3º par mais curto que o 2º. Patela e tibia do 4º par por 1 mm. mas curto que as do 1º par.

Toda a aranha côr de chocolate, com densos pêlos esbranquiçados. Sem aneis de pêlos avermelhados ou róseos na parte distal dos tarsos. Esterno e ancas das pernas marrom escuro, sem pêlos brancos. Fimbria das ancas dos palpos e do sulco ungueal vermelha.

Cefalotorax tão largo quanto longo, bem mais curto que a patela e tibia do 4º par de pernas e mais ainda do que as do 1º par.

Fóvea torácica redonda. Cômoro ocular quase 2 vezes mais largo que longo. Olhos M. A. bem maiores que os L. A., distantes entre si tres quartos de seu diâmetro e dos laterais um quarto. L. P. menores que os L. A. Olhos M. P. duas vêzes menores que os L. P., contíguos a êstes. Uma linha imaginária reta, tangente às bordas anteriores dos M. A. seria tangente também às bordas anteriores dos L. A.

Reta tangente à borda anterior dos L. P. passaria no meio dos M. P.

Quelíceras com 10 dentes na borda interna do sulco ungueal, sendo os ápicais os mais robustos. Com uns 15 dentículos minúsculos, ajuntados em área pequena, ao lado dos dentes 9 e 10, em direção à base do sulco (fig. 11).

Esterno bem mais longo que largo (5:4), com as sigilas do 3º par de pernas bem nitidas, grandes e de posição sub-marginal.

Lábio tão longo quanto largo, com o terço apical profusamente "cuspidulado", obedecendo as cúspides á disposição mais ou menos regular de filas transversais.

Todos os tarsos com escópulas completas, atingindo sempre a base do articulo.

Metatarsos dos 2 primeiros pares de pernas escopulados até a base; do 3º par até a metade e do 4º par apenas no terço apical; sem pêlos divisórios nas escópulas tarsais.

Apófise tibial do 1º par de pernas (fig. 9) bifida. A interna é menor, mais estreita e tem 1 espinho na base. A externa é robusta, e longa, com um rastelo no ápice, formado por numerosos espinhos curtos e dirigidos para dentro.

O tarso dobra-se do lado externo desta última apófise.

Bulbo copulador (fig. 10) com êmbolo muito longo, sinuoso em seu percurso e, além disso, recurvo, apresentando uma ponta fina, meio retorcida.

Êste exemplar parece representar o macho de *Avicularia jurnensis* até agora não descrito, pois C. Mello Leitão, em 1923 se referiu apenas à fêmea.

6) MATERIAL ENVIADO DA UNIVERSIDADE DE PORTO ALEGRE, RIO GRANDE DO SUL, em 17 de Maio de 1951:

4 exemplares de *Selenops spixii;*
1 exemplar, macho, de *Ctenus ocellivenler;*
2 exemplares de *Actinopus crassipes;*
1 exemplar, macho, de *Phoneutria fera;*
1 exemplar de *Latrodectus geometricus;*
10 exemplares de *Polybetes maculatus;*
1 exemplar, fêmea, de *Phoneutria fera.*

7) MATERIAL ARACNOLÓGICO PROVENIENTE DA GUIANA FRANCESA:

Colecionadores: — Drs. A. Hoge e J. M. Ruiz, do Instituto Butantan.
Data: — Julho de 1951.

*Avicularia ancylochyra* Mello Leitão, 1923 — 7 fêmeas;
*Avicularia avicularia variegata* Cambridge, 1896 — 10 fêmeas adultas e 2 fêmeas jovens.

Capturados em Bordat Montabo (Santa Clara).

8) MATERIAL ENVIADO PELO DR. OTTO SCHUBART, em 10 de junho de 1952:

N.º 2360: — *Scolopocryptops miersii* — 1 exemplar filhote, Capturado sob pedras, perto da barragem da Cachoeira de Emas (Pirassununga), em 30-12-38. Devolvido.

N.º 2361: — *Otostigmus caudatus* — 1 exemplar filhote, capturado na mata de Pedra Branca, sob cascas de árvores, em 30-12-38. Devolvido.

N.º 2347: — *Newportia longitarsis longitarsis* — 1 filhote, capturado numa capoeira, perto da estrada para a Cachoeira de Emas, em 18-12-38. Devolvido.

N.º 2354: — *Scolopocryptops miersii* — 1 filhote, capturado numa capoeira na divisa com a Fazenda Graciosa, em 22-12-38. Devolvido.

N.º 2374: — *Newportia l. longitarsis* — 1 filhote ,capturado em capoeira perto de um canavial, nos arredores de Baguassú, em 10-1-39.

N.º 2377: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado na Faz. Graciosa, sob tijolos do quintal, em 12-1-39.

N.º 2477: — *Cryptops galatheae* — 3 exemplares, capturados na mata, sob cascas de árvores, na Faz. de Fonatanaris, e, 3-4-40. 2 devolvidos.

N.º 2497: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado em capoeira, perto da estrada, em 24-5-40. Devolvido.

N.º 2547: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado na mata, sob casca de árvore, na Fazenda Pedra Branca, em 1940. Devolvido.

N.º 2531: — *Otostigmus limbatus* — 1 exemplar, capturado sob paus pôdres, em mata de Baguassú, Pirassununga, em 5-2-41. Devolvido.

N.º 2601: — *Otocryptops ferrugineus ferrugineus* — 2 filhotes, capturados sob cascas podres, na mata da Fazenda da Barra, em 5-2-41. Devolvidos.

N.º 2602: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado na mata da Faz. da Barra, em 5-2-41. Devolvido.

N.º 2615: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado perto de Vassununga, sob entulho, em 7-3-41.

N.º 2616: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, da mesma procedência do anterior. Devolvido.

N.º 2620: — *Cryptops galatheae*, 1 filhote e 1 adulto, capturados em Vassununga, em 9-3-41. Devolvidos.

N.º 2627: — *Cryptops galatheae* — 1 exemplar, capturado sob pedras de um quintal, na Cachoeira de Emas, em 19-4-41.

N.º 2639: — *Cryptops galatheae* e *Otostigmus caudatus*, capturados na Fazenda Santa Maria, em Porto Ferreira, em mata nascente, em 21-4-42. Devolvidos.

N.º 2666: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado na mata da fazenda Retiro de Sete Lagôas (Mogi-Guassú), em 2-8-41. Devolvido.

N.º 2662: — *GEOPHILOMORPHA* — 1 filhote, sob tijolos empilhados num pomar da Fazenda Velha de Sete Lagôas, em 31-7-41. Devolvido.

N.º 2719: — *Cryptops galatheae* — 1 filhote, capturado na Fazenda São José, perto de Rio Claro, em 29-9-41. Devolvido.

N.º 2726: — *Otostigmus limbatus* — 1 exemplar, capturado na mata da Cachoeira de Cima, em Mogi-Guassú, em 12-10-41. Devolvido.

N.º2746: — *Cryptops glatheae* — 2 exemplares, capturados em capoeira perto da cidade de Santa Rita Passa Quatro, em 30-12-41.

N.º 2751: — *Cryptops glatheae* — 1 exemplar, capturado sob montão de paus pôdres, numa plantação de algodão, na Fazenda Pedra Branca, Pirassununga, em 15-1-42.

N.º 2791: — *Newportia* v. *longitarsis* — 1 exemplar capturado em 31-2-43 em Pirassununga.

N.º 2825: — *Otostigmus limbatus* — 1 exemplar, capturado numa capoeira perto da Lagôa dos Patos, Municipio de Pirassununga, em 2-3-44. Devolvido.

N.º 2826: — *Cryptops schubarti*, nova species.

*Tipo:* — N.º 711 da Colecção quilopódica do Instituto Butantan.

*Local-tipo:* — Sob folhas secas, na mata do Procópio, Município de Porto Ferreira.

*Paratipos:* — N.º 2826 da Coleção de Dr. O. Schubart, Pirassununga, com a mesma procedência da do tipo.

N.º 2885 — da Ilha do Macaco, Mun. Jaboticabal; (I. Butantan — 712).

N.º 3012 — Santa Rita de Passa Quatro; (I. Butantan — 713).

N.º 714 (Inst. Butantan) — Fazenda Santa Maria, Porto Ferreira — 2 exemplares;

N.º 715 (Inst. Butantan) — Baguassú, Mun. Pirassununga.

*Caracterização:* — Placa cefálica (fig. 12) com 2 sulcos longitudinais, divergentes, bastante delicados, mas que se estendem até a base das antenas. 1º tergito com fossa semi-circular (fig. 12), nitida e 2 sulcos paramedianos, paralelos, que atravessam a fossa e continuam na frente. 21º tergito repuxado atrás, no meio (fig. 13); com sulco longitudinal mediano, largo e profundo. Os outros tergitos com os 2 sulcos paramedianos costumeiros, mas sempre mais reforçados na segunda metade de cada placa. Os sulcos colaterais dos mesmos tergitos não alcançam a borda posterior.

Coxosternum forcipular sem sulco algum e sem depressão; com borda anterior reta.

Esternitos com sulcos atravessados em ângulo reto, formando a figura de uma cruz. 21º esternito sem sulco mediano algum, como também o 20º.

Tarsos 1 e 2 das pernas com articulação muito mal distinguivel. 21º pre-fêmur com abundantes espículas, mais frequentes nos lados medial e

ventral, rareando na face dorsal. Fêmur idem. Os dois sem protuberância espiculada no canto distal, mas o fêmur apenas com 1 espinho maior e mais obtuso (fig. 14).

Pre-fêmur e fêmur, na face dorsal, com a área um tanto achatada, fortemente sulcada nas junções dos artículos. Fêmur sem espícula ventral mediana terminal. 21.ª tíbia com 7-11 espículas ventro-mediais enfileiradas (fig. 14). 1º tarso com 3 espículas enfileiradas (fig. 14). Toda esta perna ornada de pêlos longos.

*Diagnóstico diferencial*: — As espécie morfològicamente mais afim é sem dúvida a *Cryptops galatheae*, cujas pernas finais, têm, mais ou menos, a mesma conformação morfológica, com o mesmo número de espinhos. O "Habitat" seria igualmente o mesmo.

Entretanto, o 1º tergito de *galatheae* Meinert, 1886, não apresenta sulcos paramedianos, longitudinais. Os tarsos de *galatheae* não são separáveis em 1º e 2º tarso, isto é, não aparece articulação no permeio. Além disso, apresenta a espécie de Meinert uma margem bi-arqueada na parte anterior do coxosternum forcipular.

É esta espécie dedicada ao prof. Otto Schubart.

N.º 2829: — *Otostigmus* sp. 1 exemplar, colhido na Fazenda Landgraf, em 7-3-44. Em mau estado de conservação, impossibilitando a determinação da espécie. Devolvido.

N.º 2830: — *Otostigmus kretzi* — 2 exemplares, colhidos na Fazenda Nova America (Analândia), em pasto, sob pedras, em 7-4-44.

*Diagnóstico*: — Antenas com 18 artículos. Placa cefálica sem sulcos pequenos sulcos anteriores nos tergitos 2, 3, 4 e 5.6º e 7º já com sulcos mais extensos. Do 8º ao 20º sulcos paramedianos completos, mas sempre muito delicados. 21º sem sulco algum. Somente êste com carenas laterais.

Coxosternum forcipular com curto sulco anterior. Placas dentárias com 4+4 dentes isolados, sendo o externo menor que os outros.

Esternitos 3-17 com 2 sulcos anteriores muito curtos. Esternitos lisos, sem depressão alguma. Tarsos 1-16 com 2 esporões; 17-20 com um esporão; 21º sem esporão. 21º esternito truncado atras; sem depressão alguma.

N.º 2884: — *Cryptops schubarti* sp. n.

Colhidos os 3 exemplares nas matas marginais do rio Mogi, no Municipio de Araraquara, em 28-8-44. Devolvidos.

N.º 3024: — *Otostigmus cavalcantii*, 1 exemplar, colhido por Da. Jandira Schubart, sob madeira pôdre, na Fazenda Floresta, Morro Grande (Municipio Rio Claro), em 15-9-45. Devolvido.

N.º 3092: — *Scolopendra v. viridicornis* — colhido em Emas, Pirassununga, em campo cerrado, por baixo de um cupimzeiro, em 29-7-46. Devolvido.

N.º 3207: — *Otostigmus cavalcantii*, colhido em Emas, em 13-3-48, num buraco de Tatú, abandonado. Devolvido.

N.º 3213: — *Otocryptops ferrugineus ferrugineus* — 1 filhote e 1 adulto, colhidos em 22-10-48 em capoeira, perto da cachoeira de Espraiada, Município Ouro Fino. Devolvido.

N.º 3328: — *Lithobius* sp. Colhido numa capoeira, perto do córrego, na Mata Negra, Mun. Descalvado, em 20-1-51. Devolvido.

N.º 3225: — *Otocryptops f. ferrugineus* — colhido sob pau pódre, em pasto, perto de Capão Redondo, Pirassununga, em 26-11-48, em 26-11-48. Devolvido.

N.º 1282: — *Otostigmus kretzi* — 3 exemplares, capturados sob pedras em Baguassú, Pirassununga, em 27-12-38. Devolvidos.

N.º : — *Otostigmus cavalcantii* — colhido em Emas, em 21-6-40. Devolvido.

N.º 1403 — *Cryptops schubarti*, n. sp. — colhido num bambusal, na Fazenda Santa Maria, Município Porto Ferreira, em 17-1-40.

N.º 1501: — *Otocryptops f. ferrugineus* — colhido por Da. Jandira Gaspar, perto da Cachoeira de Emas, Pirassununga, em 19-6-42. Devolvido.

N.º 1570: — *Scolopendra v. viridicornis* — capturado em Baguassú, em 19-6-42. Devolvido.

N.º 1571: — *Cryptops schubarti* n. sp. — Capturado por Da. Jandira Gaspar, em Baguassú, Pirassununga, perto de uma casa, em 22-6-42.

N.º 1586: — *Rhysida nuda nuda* — capturado na Fazenda Pedra Branca, Pirassununga, numa roça, em 20-8-42. Devolvido.

N.º 1574: — *Cryptops iheringi* — capturado de noite sobre a ponte da cachoeira de Emas, em 23-6-42. Devolvido.

N.º 1701: — *Otostigmus cavalcantii* — capturado em 29-12-43, numa garage de Pirassununga. Devolvido.

N.º : — *Cryptops schubarti* n. sp. — capturado no Pesqueiro de João Jorge, numa capoeira, por Col. Newton dos Santos, em 16-3-44.

N.º : — *Rhysida brasiliensis* — capturado perto de casas da Fazenda Campo Alegre, Pirassununga, por Da. Jandira Gaspar, em 6-3-45. Devolvido.

N.º 1726: — *Otostigmus cavalcantii* — capturado por Orlando Sinotti, à beira da estrada, Pirassununga.

N.º 1728: — *Cryptops iheringi* — capturado à porta da cosinha, por Da. Jandira Schubart, Pirassununga, em 15-6-45.

N.º : — *Rhysida brasiliensis* — capturado por José Callegari, em Visconde do Rio Claro, Mun. Analândia, em Março de 1946. Devolvido.

N.º 1770: — *Rhysida brasiliensis* —, capturado em Pirassununga, num parque, perto de uma bomba d'água, em 12-6-46.

N.º ....: — *Cryptops iheringi* — capturado na usina de Cachoeira de Emas, em Maio de 1947.

N.º 1780: — *Rhyda brasiliensis* — capturado em roça, por I. B. Lima, na Cachoeira de Emas, em 6-10-48. Devolvido.

N.º ....: — *Otostigmus cavalcantii* — 2 exemplares, da cachoeira de Emas. Devolvidos.

N.º 1818: — *Cryptops iheringi* — cachoeira de Emas, capturado por Isaura P. de Lima, dentro de casa, em 2-5-49. Devolvido.

N.º 1844: — *Cryptops iheringi* — capturado por Callegari, no Horto Florestal de Rio Rio Claro, em Julho de 1949. Devolvido.

N.º 1876: — *Cryptops iheringi*, capturado na usina da Cachoeira de Emas, em 18-5-40. Devolvido.

N.º 1877: — *Rhysida brasiliensis*, encontrado perto de um galinheiro em Pirassununga, em 2-7-50.

N.º 1906: — *Rhysida brasiliensis*, no quintal de uma residência em Pirassununga, em 21-1-51. Devolvido.

N.º 1948: — *Cryptops iheringi*, capturado num quintal, Pirassununga. Janeiro de 1952. Devolvido.

N.º 1951: — *Rhysida brasiliensis*, capturado dentro de uma casa em Pirassununga, em 10-3-52.

N.º 1949: — *Rhysida brasiliensis*, encontrado no parque de Pirassununga, em 27-1-52. Devolvido.

N.º ....: — *Otostigmus tibialis*, encontrado na usina Jacaré, Município Brotas, em 10-1-52. Devolvido.

N.º ....: — *Rhysida brasiliensis* — encontrado em capoeira na Estação Experimental de Pirassununga, em 14-8-48. Devolvido.

N.º ....: — *Scolopendra v. viridicornis*, capturado pelo colegial Callegari, em Visconde de Rio Claro, em Março de 1946. Devolvido.

N.º 2729: — *GEOPHILOMORPHA* — um exemplar, coletado por Jandira Gaspar, em Mogi-Guassú.

9) MATERIAL DO MÉXICO, VERA CRUZ, ENVIADO PELO DR. XAVIER NIETTO, DO CENTRO DE HYGIENE E ESTACIÓN DE ADIESTRAMENTO EN ENFERMIDADES TROPICAIS:

*Centruroides gracilis* (Latr.), 1778.

328 exemplares, capturados em Colina, Mexico, em 1952.

*Vejovis mexicanus* C. L. Koch, 1836 — 11 exemplares do mesmo local.

*ARGIOPIDAE* — 200 exemplares de diversos gêneros e espécies.

*Eurypelma* sp. — 1 exemplar, da mesma procedência.

10) MATERIAL ENVIADO DA COLOMBIA, PELO PADRE HERMANO DANIEL, COLÉGIO SAN JOSÉ:

*Chactas gestroi* Kraepelin, 1812 — 3 exemplares.

Hermano Daniel enviou também um lote de *DIPLOPODA* e *ARANEOMORPHA*. Infelizmente, porém, o material sofreu tanto na viagem que não mais póde ser identificado.

11) MATERIAL ENVIADO DA COLOMBIA, PELO DR. A. RODRIGUES GOMES, CORDOBA, CUNDINAMARCA:

*Centruroides margaritatus* (Gervais), 1841 — 1 exemplar.

12) MATERIAL PROVENIENTE DA REGIÃO AMAZÔNICA:

Colecionadores: — Srs. A. Hoge e assistentes do Instituto Butantan, em excursão científica: — 1952.

a) *CHILOPODA*:

*Scolopendra v. viridicornis* — 1 exemplar de Thomé — Assú;
1 " de Acara Mirim, Pará;
1 " de Macapá;

*Scolopendra viridicornis nigra* — 3 exemplares da Ilha de Sant'Ana, Maranhão.

*Otostigmus pococki* — 2 exemplares da Ilha Santana, Maranhão;
1 exemplar de Manacapurú.

*Scolopendra morsitans* — 1 macho da Boca do Tefé, Solimões;
3 exemplares de Belém do Pará.

*Otocryptops f. ferrugineus* — 1 exemplar da Boca do Copeá.

*Scolopocryptops miersii paraensis* — 2 exemplares de Belém do Pará;
1 exemplar de Igarapé, Pará;
1 É do IAN, Belém, Para.

*Otostigmus amazonae* — 4 exemplares do IAN, Belém do Pará.

b) *SCUTIGEROMORPHA*:

*Brasilophora trimarmorata* — Thomé Assú — 1 exemplar;
Margens do Rio Tapajóz — 1 exemplar;
Margem do Guamá, Belém do Pará.

c) *DIPLOPODA*:

| | | |
|---|---|---|
| Fóz do Tefé: | 230 | exemplares (env. a O. Schubart); |
| Igarapé: | 6 | " |
| Oiapoque: — (Amapá): | 1 | " |
| São Luiz, Maranhão: | 5 | " |
| Boca do Catuã: | 6 | " |
| Boca do Copeó: | 5 | " |
| IAN-Rio Guamá: | 10 | " |
| IAN-Belém: | 6 | " |
| Thomé-Assú: | 11 | " |
| Rio Guamá: | 11 | " |
| Boca do Japucá: | 26 | " . |

d) *ORTHOGNATHA* (aranhas caranguejeiras):

*Avicularia a. avicularia*:

| | | |
|---|---|---|
| Boca do Tefé, rio Solimões, Amazonas: | 49 | exemplares; |
| Thomé Assú: | 3 | " |
| Boca do Jacaré (Solimões): | 4 | " |
| Belém do Pará: | 3 | " |
| IAN, Belém (Prof. P. Ledoux): | 5 | " |

*Sericopelma* sp.:

| | |
|---|---|
| Boca do Tefé: | 2 exemplares; |
| Thomé-Assú: | 1 exemplar; |
| Rio Solimões: | 2 exemplares; |
| Igarapé, Belém: | 1 exemplar. |

*TRECHONINAE* — *Trechona* sp.:

| | |
|---|---|
| Boca do Teié, Solimões: | 5 exemplares; |
| Igarapé: | 1 exemplar; |
| Cachoeira (S. Manuel): | 3 exemplares; |
| Thomé Assú: | 3 exemplares; |
| Boca do Copeó: | 1 exemplar; |
| Boca do Napurá: | 1 exemplar; |

As espécies dos gêneros *Trechona* e *Sericopelma*, como dos demais gêneros, ainda mal caracterizados sistemàticamente, só poderão ser determinadas com segurança com material mais abundante e de outras regiões.

e) *LABIDOGNATHA*: — (aranhas verdadeiras):

| | |
|---|---|
| Téié, Rio Solimões: | 1 *Lycosa erythrognatha.* |
| " " " | 2 *Ctenus albofasciatus* C. 1897. |
| Jaguaribe: | 1 *Phoneutria reydi.* |
| Rio Guamá, Pará | 1 *Gasteracantha octocantha.* |
| Rio Tapajós (S. Manuel): | 2 *Heteropoda venatoria.* |
| Boca do Catuã: | 1 " " |
| Marituba: | 1 " " |
| Igarapé, Pará (Belém): | 1 *Ctenus amphora;* |
| Boca do Japurá: | 1 " " |
| Belém do Pará: | 2 *Ctenus crulsi.* |
| Rio Guamá, Pará: | 1 *Ctenus cuminaensis.* |

13) MATERIAL ENVIADO AO BUTANTAN PELO DR. HELMUT SICK, FUNDAÇÃO BRASIL CENTRAL: — 16-III-53.

J. 306: — *Scolopendra viridicornis viridicornis*, 1 exemplar retirado do estômago de uma ave de rapina (A. 961).
Jacaré, Alto Xingú, Mato Grosso.

J. 750: — *Rhysida longipes longipes*
Santa Teresa, Rio de Janeiro, Distrito Federal. (Butantan N.º 743).

J. 751: — *Scolopendra subspinipes fulgurans*, 2 exemplares:
Santa Teresa, Rio de Janeiro, Distrito Federal.

J. 718: — *Tityus paraguayensis*, 2 exemplares:
Aragarças, Rio Araguaia, Goiás.

J. 752: — *Bothriurus bonariensis*, 2 exemplares;
Aragarças, Rio Araguaia, Goiás.

Sem N.º: — *Otocryptops ferrugineus ferrugineus*
Itatiaia; Estado do Rio de Janeiro.

Sem N.º: — *Lycosa erythrognatha*;
*Phoneutria fera*;
*Scolopendra subspinipes fulgurans*;
Santa Teresa, Rio de Janeiro, Distrito Federal.

Sem N.º: — *Pterinopelma* sp., 1 macho.
Itatiaia, Estado do Rio de Janeiro.
A determinação específica depende de uma revisão dêste e dos gêneros afins.

J. 432: — GEOPHILOMORPHA
3 exemplares em mau estado de conservação, tornando impossível a sistematização.
Ilha Grande, Rio de Janeiro.
*Cryptops iheringi* 1 exemplar.
Da mesma procedência.

Sem N.º: — *Otostigmus limbatus diminutus* 1 exemplar.
Aragarças, Goiás. Capturado em 15-IV-52.

Segundo a caracterização de C. Attems (Das Tierreich, Scolopendromorpha, 1930, pagina 156) distingue-se *Otostigmus limbatus* fàcilmente dos outros Otostigmineos:

por apresentar 4 artículos basais das antenas sem pêlos;
por ter 2 sulcos longitudinais completos nos esternitos 2-20;
por apresentar 2 cavidades subredondas, rasas, entre êstes dois sulcos (2-20);
por existir 1 esporão tarsal, muito pequeno, apenas no primeiro par de pernas. Em casos raros poderá haver um esporão tarsal pequeno ainda em alguns pares de pernas anteriores.

Em 1939 estabelecemos a subespécie *O. limbatus diminutus*, distinguível de *limbatus limbatus* Mein., 1886:

por ter 2 esporões tarsais, pequenos, nos primeiros 2-3 pares de pernas; por ter apenas 2 e meio artículos basais das antenas sem pêlos; por serem os sulcos nos esternitos abreviados nas placas 18 e 19 e inteiramente ausentes na 20a., bem como as duas depressões entre êstes sulcos.

Quanto ao esporão pequeno nos tarsos das pernas anteriores (ausente ou presente), existe nesta subespécie a mesma variação de *l. limbatus*, embora quase sempre êste esteja ausente. (Conf. Mem. Inst. Butantan, 13, 271, 1939).

Em 1942 (Mem. Inst. Butantan, pag. 71 e 81) voltamos ao assunto, trazendo a prova de que a ausência de pêlos nos artículos basais das antenas está sujeita a variações, podendo ora estar sem pêlos apenas 2 e meio artículos ou mesmo 3 (constituindo a ausência de pêlos em 4 artículos a variação extrema).

Na mesma ocasião demonstramos que os 2 sulcos longitudinais dos esternitos também estão sujeitos à variação, no sentido de que eles podem estar ausentes já completamente no 20º esternito e presentes no 19º apenas sob a forma de 2 curtos sulcos anteriores.

À vista dos achados, já não há distinção entre *O.N. limbatus limbatus* Meinert, 1886 e *limbatus diminutus* Bücherl, 1939, no tocante ao número de artículos antenais sem pêlos e da presença ou ausência de sulcos nos esternitos 20 e, em parte, 19.

Subsistem, entretanto, caracteres outros, cujo conjunto continua a justificar a sub-espécie como distinta de *limbatus diminutus limbatus limbatus* Mein.

Êstes caracteres são enumerados por nós, em 1946 (Mem. Inst. Butantan, 19,155), devendo ser descontado apenas o escrito sobre os artículos basais das antenas e dos sulcos dos esternitos.

Com a vinda do exemplar de Aragarças retomamos o assunto, à procura de um caracter morfológico mais impressionante para uma segura diferenciação das duas subespécies.

Sempre nos pareceu que o caracter específico de *limbatus*, mais elucidativo e que *mais caía na vista do* especialista, para determinar com segurança esta espécie das 3 outras dezenas do mesmo gênero, repousava justamente na *ausência do esporão tarsal* em todas as pernas. Não há outra espécie com êste caracter, pois todas as outras apresentam ou 2 esporões ou 1 bastante robusto, existentes do primeiro ao 19º ou 20º par de pernas.

O exame de um número maior de exemplares, vindos em geral de todos os Estados sulinos do Brasil, veiu nos convencer, entretanto, que existem representantes de *limbatus* com 2 esporões também no 1.º par de pernas e com 1 esporão em mais 2-3 pares anteriores. Trata-se, sim, sempre de um esporão tarsal extremamente pequeno, em contraste com a robustez do mesmo nas outras espécies.

Chegámos mesmo a examinar exemplares com esporão tarsal em 5 pares de pernas e isto nas duas subespécies *limbatus limbatus* e *limbatus diminutus*.

Mais tarde, num lote do Museu Paranaense, vimos representantes da zona oeste, limítrofe com Mato Grosso, em que havia um esporão diminuto mesmo nas 10 pernas anteriores.

O exemplar de Aragarças, agora examinado, apresenta 1 esporão tarsal desde o 3º até ao 19º par de pernas. Sempre se trata de um espinho muito pequeno, necessitando de aumento de lupa para ser apreciado.

Como nos outros caracteres o exemplar de Aragarças é um representante da subespécie *limbatus diminutus;* cremos haver necessidade apenas de ampliar o diagnóstico desta subespécie, incluindo-se no mesmo êste novo fato: "Esporão tarsal pequeno até as pernas 19, podendo estar ausente também desde o 3º ou 4º par."

J. 284: — *Rhysida brasiliensis rubra* — 1 exemplar;
Chavantina, Rio das Mortes, Mato Grosso.

Sem N.º — *Scolopedra v. viridicornis*
1 filhote, de Aragarças.

J. 57: — *Cryptops heathii*
Do Rio Pindaíba, Mato Grosso. Encontrado no ninho de *Cornitermes* sp.

J. 724: — *Brasilophora margaritata*
De Garapú, Alto Xingú, Mato Grosso; capturado dentro de um rancho.

J. 263: — *Cryptops heathii*
De Chavantina.

J. 723: — *Polybetes maculatus*
De Garapú, Alto Xingú.

J. 33: — *Rhoda calcarata carvalhoi*
3 exemplares, retirados do estômago de *Haplocercus spinosus,* Chavantina.

J. 193: — *Cryptops heathii*
Do rio Koluene, Alto Xingú, Mato Grosso.

Sem N.º: — *Newportia diagramma aureana*
Aragarças, Mato Grosso.

14) MATERIAL DA ARGENTINA E O DO CHILE, ENVIADO PELO PROFESSOR DR. MAX BIRABEN:

1. *GEOPHILOMORPHA*:

Bariloche, Gob. Rio Negro; Biraben col. em XI-48;
Felipe Sola, Prov. de Buenos Aires: Martinez col. em XII, 1951;
Lago Meliquina, Gob. de Neuquén; Biraben col. em II-48;
Palmar, Santa Barbara, Jujuy; Biraben col. em V-47;
Alpa Corral, Cordoba; Biraben col. em 18-VI-50.

2. *LITHOBIOMORPHA*:

a) *Lithobius* gen.: — (*platensis* sp.?)

Alta Gracia, Prov. de Cordoba; Biraben col. em VII-1951;
Bajo Grande, Prov. de Cordoba; Biraben col. em XI-1949;
Alpa Corral, Prov. de Cordoba; Biraben col. em 18-VI-1950;
Palmar, Santa Barbara, Juju; Biraben col. em V-1947.

b) *Anopsius* gen.: — *A. productus?*

Las Plumas, Chubut; Biraben col. em XI.1948;
Cabo Buen Tiempo, Gallegos, Gob. de Santa Cruz; Biraben col. em III-48;
Oran, Prov. de Salta; Biraben col. em 8-XII-51;
San Pedro, Prov. de Salta: Biraben col. em 29-XI-51.

c) *Catanopsius* gen.: — *C. chilensis?*

Valle del Aysen, Chile; Biraben col. em XI.48;
Lago Huechulaufquén, Gob. de Neuquén; Biraben col. em II-49;
Mina Aguilar, Tres Cruces, Jujuy; Biraben col. em IV-1947;
Perales, Prov. de Jujuy; Biraben col. em 13-XII-50;
Valle Grande, Jujuy; Biraben col. em 3-XII-1950;
Lago Fontana, Prov. do Chubut; Biraben col. em 22-II-1948;
Thea, Prov. de Cordoba; Biraben col. em XI-1950.

*Comentário*: — Não procedemos à determinação genérica siquer dos *Geofilomorfos*, porque os poucos exemplares eram procedentes de regiões diversas e, eram, em sua maioria, filhotes, impossibilitando-nos uma determinação segura.

À determinação específica dos *Litobiomorfos* segue um ponto de interrogação, o que quer dizer que não estamos absolutamente seguros da classificação específica. Verhoeff, em suas últimas publicações, tem invalidado diversos gêneros sul-americanos de Broelemann e pôsto em sinonimia espécies de Sivestri, reclamando por uma nova redistribuição de grande número de gêneros e espécies sul-americanos. Os poucos exemplares da coleção do Instituto Butantan não nos capacitam a empreender esta revisão.

3. *SCUTIGEROMORPHA*:

*Brasiloscutigera viridis*:

Sierra Guanaco, Prov. de Chubut; Biraben col. em XI-1948.

*Scutigera parcespinosa*:

Valcheta, Rio Negro, Argentina; Biraben col. em XI-1948.

4. *SCOLOPENDROMORPHA*:

a) *Scolopendra*:

*Scolopendra viridicornis viridicornis*:

Rio Hondo, Santiago del Estero; Biraben col. em XI.1950
Palmar, Santa Barbara, Jujuy; Biraben col. em V.1947;
La Viña, Prov. de Catamarca; Biraben col. em 9-III-1950;
Pocitos, Prov. de Salta; Biraben col. em 21-10-1951;
El Cadillal, Prov. de Tucuman; Frosen col. em X-1947;
Fraile Pintado, Jujuy; Biraben col. em 10-XII-50;
Embarcación, Prov. de Salta; Biraben col. em V-1947;
Hickman, Prov. de Salta; S. Pierotti col. em XI-1951;
Laguna Yema; Gob. de Formosa; Biraben col. em V-1947.

b) *Cormocephaluss*

*Cormocephalus* (*C*) *impressus birabeni* subsp. n.

Colorido oliváceo, uniforme em todo o tronco; esternitos e pernas amarelos; 53 mm de comprimento; placa cefálica mais longa que larga; com 2 sulcos longitudinais divergentes e que percorrem toda a placa; antenas com 17 artículos, dos quais os 8 basais sem pêlos (fig. 15); primeiro e segundo artículos mais largos que longos; terceiro tão largo quão longo, do 4º em diante mais longos que largos. Placas basais presentes (fig. 15). Coxosternum forcipular com 2 sulcos longitudinais, convergentes na frente, a estender-se apenas até os sulcos transversais, que representam uma série de linhas irregulares. (fig. 16); placas dentárias um tanto mais longas que largas, munidas de 3 dentes isolados (fig. 16). 1º ao 20º tergito com 2 sulcos completos; no 1º os sulcos apresentam uma ramificação externa (fig. 15); sem elevação quilhar entre os sulcos; 21º tergito com sulco impar; carenas laterais desde o 12º tergito; esternitos 2-20 com sulcos completos; área entre os sulcos lisa, sem depressão; coxopleuras com apêndice curto, cônico (fig. 17), com 1 espinho na ponta; sem espinhos laterais; prefêmur das últimas pernas com apófise no canto apical interno terminada em 2 espinhos; na área interna 3 fileiras de 2 espinhos cada fila e mais 1 em direção à base da apófise (fig. 18).

*Diagnóstico diferencial*: — A nova subespécie distingue-se de *C. impressus impressus* Por., 1876 pelos 2 sulcos da placa cefálica, que não atingem a margem anterior da fronte em *i. impressus;* pelos 8 artículos basais das antenas desprovidos de pêlos, que são 6 apenas em *i. impressus;* pelos sulcos transversais do coxosternum forcipular. Em i. *impressus* há apenas 1 sulco horizontal e os 2 longitudinais atravessam êste e se estendem até a base das placas dentárias; em *impresus birabeni* há no 1º tergito uma ramificação lateral dos 2 sulcos paramedianos, ausente em i. *impressus;* as coxo-

pleuras de *i. birabeni* terminam com uma apófise, ausente em *i. impressus*; a apófise do último prefêmur termina com 2 espinhos na subespécie nova.

San Pedro, Prov. de Salta, Argentina.

Biraben col. em IV-1947.

Subespécie dedicada ao prof. Max Biraben, incansável colecionador de invertebrados.

*Cormocephalus (Hemiscolopendra) laevigatus*

Santiago, Chile: Kuschel col. em 1947;

Las Palmas, Argentina; Biraben col. 1948. (= *C. (H.) platei*).

*Cormocephalus (Hemiscolopendra) chilensis*

Cabana, Cordoba; Piraben col. em 1949-50;

Caranchos, La Pampa: Biraben col. em XI-1948;

Jesus Maria, Cordoba; Biraben col. em XI-49;

Alta Gracia, Cordoba; Biraben col. em 7-1952;

Copacabana, Cordoba; Biraben col. em III-1949;

Pringles, Rio Negro, Argentina; Biraben col. em XI-1948;

Capilla del Monte, Cordoba; Biraben col. em 6-III-50;

Alpa Corral, Cordoba; Biraben col. 18-VI-1950;

Tulumba, Cordoba; Biraben col. em 11-I-1949;

Atos Pampa, Cordoba; Biraben col. 27-XI-50;

Cerro Colorado, Cordoba; Biraben col. em 1-XI-1949.

## REAGRUPAMENTO DAS ESPÉCIES DO SUBGÊNERO *HEMISCOLOPENDRA* E REDESCRIÇÃO DO MESMO:

No decurso dêste trabalho de determinação das espécies do gênero *Cormocephalus*, subgênero *Hemiscolopendra*, temos deparado com alguns "senões" no magistral e esmerado trabalho de Attems (Das Tiereich — *MYRIAPODA* — 2. *SCOLOPENDROMORPHA*, páginas 61 e 110-114, publicado por Walter de Gruyter e Co., Berlin e Leipzig, 1930). O copioso material, enviado pelo prof. Biraben nos coloca à vontade para esmiuçar êstes "senões".

a) Attems, página 61: — Chave dos subgêneros de *Cormocephalus*:

O citado pesquisador separa os dois subgêneros *Cormocephalus* e *Hemiscolopendra* da seguinte maneira:

1.º tergito sobrepassando a borda posterior da placa cefálica = *Cormocephalus*;
Placa cefálica sobrepassando um tanto o 1.º tergito ou união em justaposição dos dois segmentos = *Hemoscolopendra*.

Êste caracter morfológico não é apreciável, pois existem exemplares de *Hemiscolopendra*, em que o 1º tergito sobrepassa igualmente a borda da placa cefálica.

É muito mais prático separar os 2 subgêneros da seguinte maneira:

"Apêndice das coxopleuras pequeno, cônico ou quase inteiramente ausente: — *Cormocephalus;*

Apêndice das coxopleuras, longo, cilíndrico, com 1 a 5 espinhos na ponta apical e 1-5 espinhos dorsais e ventrais: — *Hemiscolopendra.*

b) Attems, páginas 110-114: — Descrição das espécies de *Hemiscolopendra*, com chave para separá-las:

Na chave insiste Attems novamente na conformação da placa cefálica em relação ao 1.º tergito, si há justaposição dos 2 segmentos, si a placa cefálica se sobrepõe ao 1º tergito ou se está encaixada numa dobra do 1º tergito, de maneira que sua margem posterior fique invisível. O 2º ponto de referência é constituido pela extensão do campo poroso da região pleural do 21º segmento. Ora os poros ocupariam apenas uma faixa relativamente estreita, sem atingirem em todo o seu percurso a reentrância sulcal (*platei*), ora ultrapassariam, pelo menos na frente, esta reentrância, mas atrás deixariam livre uma área triangular (*michaelseni*). O apêndice coxopleural teria apenas 3-4 espinhos na ponta (*michaelseni*) ou mesmo 5 a 7 (*laevigatus* e *chilensis*).

Êste modo de exposição (*não deixa é de ser*) muito impreciso. Mesmo, assim, poderia aprovitar-se a chave, estabelecida por Attems, si os referidos caracteres fossem realmente invariáveis. Mas é justamente isto que não se verifica.

O professor Biraben tem nos enviado lotes de *Hemiscolopendra* correspondentes às espécies — *H. chilensis; H. laevigatus; H. platei* e *H. michaelseni.*

Após confronto morfológico chegámos à conclusão de que a espécie *H. chilensis* (Gervais) 1847 é realmente bem caracterizável; *H. platei* (Attems) 1903 é idêntica com *H. michaelseni* (Attems) 1903, devendo ser considerada sinônima a esta, com prioridade de página.

*H. michaelseni*, por seu turno, distingue-se de *laevigatus* Porat 1876 por apresentar às vezes 7 espinhos na ponta das coxopleuras, embora a regra seja a presença de 5 espinhos no mesmo local. Ora *platei* também foi descrita por Attems com 5 espinhos terminais e o professor Biraben tem nos enviado um lote de *laevigatus* de Santiago com 4-5 espinhos apicais neste apêndice.

Em face disto, não se pode deixar de colocar em sinonimia a espécie *michaelseni* (Attems) 1903 com *H. laevigatus* Porat 1876.

Uma nova chave, que permite fácil orientação do interessado, seria a seguinte:

1
- Prefêmures do 21.° par de pernas pelo menos tres e meia vezes mais longos que largos; último tergito sem sulco mediano — *H. chilensis* (Gerv)
- Prefêmures do 21° par de pernas uma e meia até duas e meia vezes mais longos que largos; último tergito com 1 sulco mediano — 2

2
- Primeiro tergito com fossa horizontal em arco e mais 2 ramificações longitudinais, divergentes; borda posterior do último esternito levemente bilobada — *H. punctiventris* (Newport) 1844.
- Primeiro tergito liso, sem fossa ou sulco; borda posterior do último esternito inteira, arredondada — *H. laevigatus* Porat 1876 (juntamente com as sinonimias: *michaelseni* e *platei* (Attems) 1903.

Todos os outros caracteres morfológicos variam e não são aproveitáveis para a determinação específica. Um grande número dêstes caracteres, como p. ex., "placa cefálica sobrepondo-se à borda anterior do 1° tergito"; "número de espinhos no apêndice coxopleural e nos prefêmures do último par de pernas" — varia mesmo dentro de um lote colhido no mesmo local e às vezes, num individuo (num e noutro lado).

Outros caracteres, dados como específicos por Attems, são apenas subgenéricos, isto é, comuns a todas as espécies. Podemos enumerar os seguintes: — Esternitos 2-20 com 2 sulcos longitudinais; tergitos 4-20 com 2 sulcos dorsais; número de artículos das antenas geralmente 17, podendo ocorrer a variação de menos 1 ou 4 mais; o número de artículos basais das antenas, que não têm pêlos é geralmente 5. No 6° já se pode encontrar uma orla de pêlos na área apical. Mas há também exemplares da mesma ninhada, em que apenas 4 artículos estão sem pêlos; em outros há 7 artículos desprovidos de pêlos. As ""carenas" laterais dos tergitos também não servem como caracter, pois, embora na maioria dos individuos existam carenas apenas no 21° tergito, pode haver também individuos da mesma espécie com os 3 últimos tergitos carenados lateralmente ou mesmo, o que é raro, os 5 últimos.

O apêndice coxopleural e o prefêmur das últimas pernas apresentam espinhos não sòmente na ponta do apêndice, mas também no percurso dorsal, lateral, do mesmo. O número dêstes espinhos varia bastante de indivíduo para individuo.

Tivemos ocasião de examinar machos e fêmeas de um mesmo lote e vimos que a variação de espinhos no apêndice coxopleural e nos prefêmures das últimas pernas diz respeito também ao sexo. Geralmente os machos têm maior número de espinhos que as fêmeas. É nos machos também que o 1° tergito se sobrepõe levemente à borda posterior da placa cefálica, enquanto que nas fêmeas pode haver justaposição ou a placa cefálica sobrepõe o 1° tergito.

Mem. Inst. Butantan
25(1):109-151, 1953



Tudo isto nos obriga a deixar valer apenas tres espécies:

*Cormocephalus (Hemiscolopendra) punctiventris* (Newp.) 1844.

Habitat: América do Norte até o México

*C. (H.) chilensis* (Gervais) 1847.

Habitat: — Chile, Argentina ocidental (Em torno de Cordoba).

*C. (H.) laevigatus* Porat 1876 (com as sinonimias: *C. (H.) michaelseni* e *platei* (Attems) 1903.

Habitat: — Argentina, Chile, Brasil, Colombia, Guianas e Uruguai.

c) *Otostigmus*:

*Otostigmus inermis*:

Plamar, Santa Barbara, Prov. de Jujuy; Biraben col. em V-1947.
Campo Gallo, Santiago del Estero; Farhat col. em XI-1950.

*Otostigmus limbatus limbatus*:

Brazo Largo (Delta), Entre Rios: Biraben col. em VIII de 1949.

*Otostigmus limbatus diminutus*:

Palmar, Santa Barbara, Jujuy; Biraben col. em V-1947.

*Otostigmus tibialis*:

Yala, Jujuy: A. Prosen col. em XII — 1948;
Salta (cidade): Biraben col. em IV-1947;
San Xavier, Gob. de Missiones; Biraben col. em XII — 1948;
Las Capillas, Jujuy; Biraben col. em 16-XI-1950.

d) *Rhysida*:

*Rhysida nuda nuda*:

Manantiales, Corrientes; Biraben col. em XII-1949.

e) *Cryptops*:

*Cryptops (Trigonocryptops) iherinfi*:

Las Capillas, Jujuy; Biraben col. em 16-PI-1950.

*Cryptops (Cr.) galatheae*:

Cabana, Prov. de Cordoba; Biraben col. em 1949-50.

*Cryptops argentinus* sp. n. (Figs. 19-20).

Manantiales, Corrientes: Biraben col. em XII-1949;
Puerto Constanza, Entre Rios: Biraben coll. em XI-1948.

Tipo e paratipos: — Coleção do Inst. Butantan e do Prof. Biraben, La Plata.

*Caracterização*: — Todo o corpo amarelado; comprimento 32 mm; placa cefálica com 2 sulcos longitudinais completos, divergentes; 1º tergito sobrepassando a borda posterior da placa cefálica; Coxosternum forcipular com 2 placas dentárias arqueadas, muito estreitas e mal destacadas; 1º tergito com fossa arqueada, horizontal e com 2 sulcos longitudinais completos, isto é, atravessam a fossa e continuam em frente até a borda anterior; tergitos 3-20 com 2 sulcos longitudinais; 4-18 ainda com 2 sulcos laterais, arqueados, anteriores; carenas laterais sòmente no 21º tergito; antenas com 17 artículos; os primeiros 4 com cerdas mais longas; esternitos 2-19 com sulco mediano longitudinal e 1 transversal; entrecortando-se os dois e formando uma cruz; 20º e 21º esternito lisos, sem sulco; borda posterior do último esternito truncada; área porosa das pleuras do último segmento não atingindo a margem do tergito; 1º e 2º tarsos das pernas indistintos; prefêmures das pernas com orlas de cerdas em toda a volta, no lado ventral maiores e seriados longitudinalmente; fêmures, principalmente das pernas 19 e 20 com 7-8 cerdas mais longas, seriadas na face ventral; prefêmur e fêmur do último par de pernas com cerdas enfileiradas ventralmente; fêmur com 1 espinho subapical; tibia com 6-7 espinhos seriados que começam no fim do primeiro terço; 1º tarso com 3 espinhos seriados; 2º tarso sem espinho algum; garra recurva, com lâmina em forma de gume; poros grandes; 2 espinhos na margem posterior (fig. 21).

*Diagnóstico diferencial*: — Comparação com *C. triserratus* (Chile), *patagonicus*, *crassipes* e *galatheae* (Argentina):

*C. triserratus*: — Placa cefálica sem sulcos longitudinais; 1º tergito sem fossa nem sulcos; coxopleuras sem espinhos; último femur com 3, tibia com 12-16, 1º tarso com 3-5 denticulos seriados.

*C. patagonicus* Mein. 1886: — mal caracterizado, constando apenas que os sulcos laterais dos tergitos começam já no 2º tergito; borda posterior do último esternito muito protraida.

*C. crassipes* Silvestri 1895: — placa cefálica sem sulcos longitudinais; fossa circular do 1º tergito curvada para tras na linha mediana; os dois sulcos longitudinais não continuados em frente à fossa; uma quilia mediana entre os sulcos dos tergitos; esternitos com sulco transversal leve; coxopleuras

se mespinhos atras; 1º tarso das últimas pernas com 2, tíbia com 6, fêmur sem espinhos seriados.

*C. galatheae* Meinert 1886: — Placa cefálica muitas vezes sem sulcos longitudinais; quando presentes, são muito leves; 1º tergito sempre sem sulcos longitudinais; a fossa arqueada muito leve, quando presente; muitas vezes ausente; coxopleuras sem espinhos; tíbia do último par de pernas, além dos denticulos seriados em número de 7-8, ainda 2 espinhos robustos na área apical.

## RESUMO

No presente trabalho se o material dos ARANEOMORPHA, MYGALOMORPHA, SCORPIONES, SCUTIGEROMORPHA, e SCOLOPENDROMORPHA, enviado ao Instituto Butantan, à Secção de *Animais Venenosos*, dos seguintes países e pelos seguintes senhores:

1. Perú: professor Walfang Weyrauch;
2. Algeria e Marrocos: Dr. Max Vachon, Museu de Historia Natural, Paris;
3. Fundação Brasil Central: Dr. Helmut Sick, Rio de Janeiro;
4. Pará e Amazonas (Brasil); Drs. professores Paul Ledoux e Harald Sioli, do Instituto Agronómico do Norte, Belém;
5. Rio Grande do Sul (Brasil); Universidade de Porto Alegre;
6. Guiana Francesa: Dr. A. Hoge e professor J. M. Ruiz, do Instituto Butantan;
7. Interior do Estado de São Paulo: Dr. Otto Schubart, Estação de Caça e Pesca; Pirassununga;
8. México (Vera Cruz): Dr. Xavier Nietto, Centro de Hygiene e Estación de Adiestramento en Enfermidades Tropicales;
9. Colômbia; prof. Hermano Daniel;
10. Chile; prof. Max Biraben;
11. Argentina; professor Max Biraben.

Foram descritas as seguintes novidades sistemáticas:

1. *Rhysida celeris andina* (Perú);
2. *Cormocephalus impressus peruanus* (Perú);
3. *Pseudidiops siolii* (Pará, Brasil);
4. *Cryptops schubarti* (São Paulo, Brasil);
5. *Cormocephalus impressus birabeni* (Salta, Argentina);
6. *Cryptops argentinus* (Corrientes, Argentina).

As espécies do subgênero *Hemiscolopendra*, gênero *Cormocephalus*, são reagrupadas em novas chaves, pondo-se em sinonimia *C. platei* e *C. michaelseni* com *C. laevigatus*.

## SUMMARY

Several collections of *ARANEOMORPHA, MYGALOMORPHA, SCUTIGEROMORPHA, SCORPIONES* and *SCOLOPENDROMORPHA,* are classified, which were received by the Instituto Butantan from Peru (prof. W. Weyrauch), Algeria and Marocco (Dr. Max Vachon, Paris), from Central Brazil (Dr. Helmut Sick), Pará and Amazonas (Dr. Paul Ledoux and Harald Sioli), from Rio Grande do Sul (University of Porto Alegre), from Guyana (Drs. A. Hoge e J. Rui), Mexico (Dr. Xavier Nietto), Columbia (Prof. Hermano Daniel), Chile (Prof. Max Biraben), Argentine (prof. Max Biraben) and from different localities of the State São Paulo (dr. Otto Schubart).

The following species and sub-species are described as new:

1. *Rhysida celeris andina;* 2. *Cormocephalus impressus peruanus;* 3. *Pseudidiops siolii;* 4. *Cryptops schubarti;* 5. *Cormocephalus impressus biraben;* 6. *Cryptops argentinus.*

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Sammlungen von *Vogelspinnen, echten Spinnen, Chilopoden, Spinnenasseln* und *Skorpionen,* die aus Peru, Kolumbien, Chile, Argentinien, Französisch-Guyana, Mexiko, Algerien und Marokko und von verschiedenen Gegenden Nord —, Süd-und Zentralbrasiliens sowie des Staates von São Paulo an unser Laboratorium im Institute Butantan gesandt wurden, sind bestimmt und folgende Tiere als neu beschrieben worden:

1. *Rhysida celeris andina;* 2. *Cormocephalus impressus peruanus;* 3. *Pseudidiops siolii;* 4. *Cryptops schubarti;* 5. *Cormocephalus impressus biraben;* 6. *Cryptops argentinus.*

fig. 1
WB.
fig. 2
WB.
fig. 3
WB.
fig. 4
WB.
fig. 5
WB.
fig. 6
WB
fig. 7
WB.

fig. 8
fig. 9
fig. 10
fig. 11
fig. 12
fig. 13
fig. 14

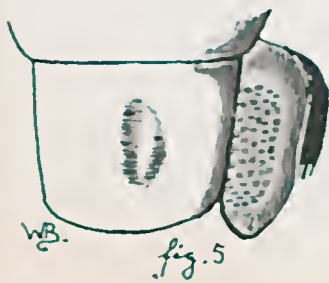
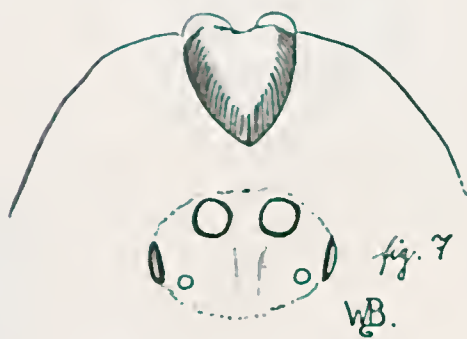
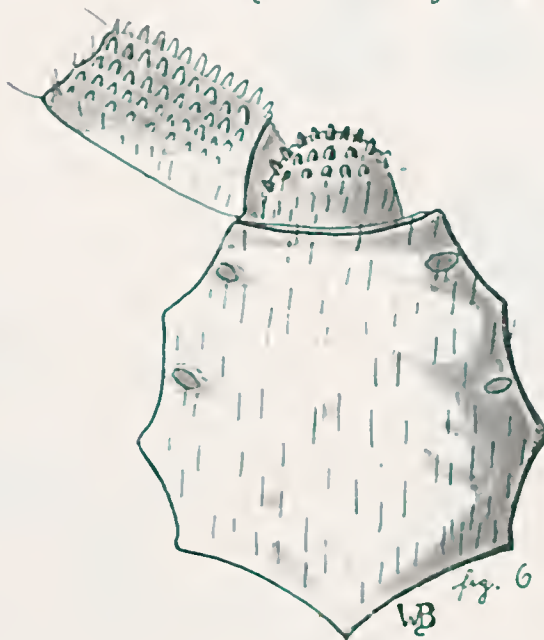
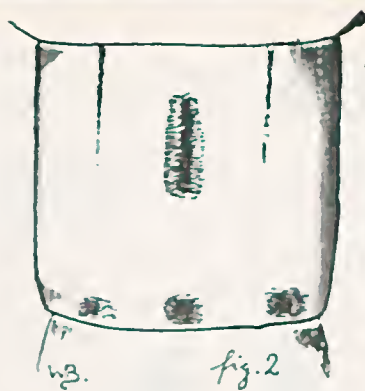
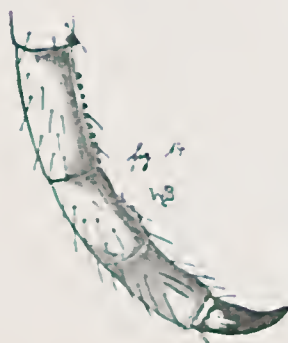
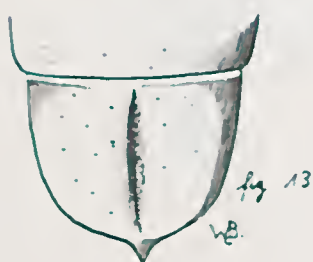
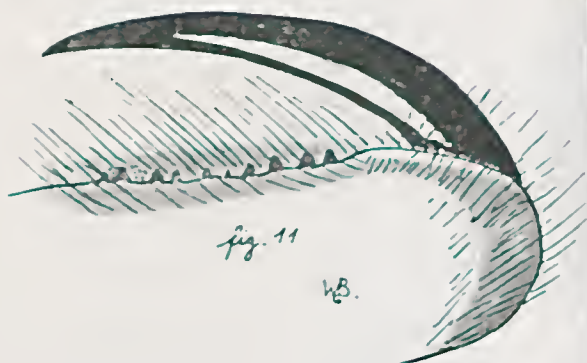
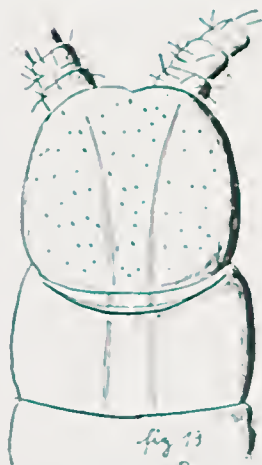
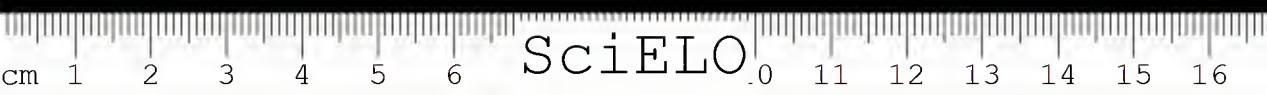



fig 15
fig 16
fig 17
fig. 18
fig 20
fig 22

# NOVO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VENENO SÊCO, PURO, DE PHONEUTRIA NIGRIVENTER (KEYSERLING, 1891) E TITULAÇÃO DA $LD_{50}$ EM CAMUNDONGOS (*)

WOLFGANG BÜCHERL

Laboratório de Zoologia Medica, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil).

## INTRODUÇÃO

As aranhas peçonhentas do gênero *Phoneutria*, família *CTENIDAE*, espécies *Phoneutria nigriventer* e *Ph. fera* (+) constituem viva preocupação dos médicos sanitaristas. Esta é a razão principal de se ter o próprio fundador do Instituto Butantan, dr. Vital Brazil, a ajuda de J. Vellard, incumbido da produção de um eficiente *sôro antictenídico* (1).

Nos anos de 1925 e 1926, êstes dois pesquisadores (2) estudaram os efeitos das picadas diretas, dos extratos glandulares e do veneno puro, obtido por um processo assás engenhoso; e, já no ano de 1926, imunizavam carneiros com extratos das glândulas de veneno e com soluções de veneno puro.

Desde aquele tempo até os nossos dias continúa o Instituto Butantan a produzir o sôro anti-ctenídico, por imunização de cavalos com o veneno de *Phoneutria nigriventer*. O processo de obtenção do antígeno não tem variado essencialmente desde Vital Brazil. São empregados até hoje soluções aquoso-glicerinadas (em tôrno de 40% obtidas pela extração das glândulas totais da aranha cloroformizada, maceradas e trituradas com areia esterilizada e tituladas em cobaios.

Êste processo tem naturalmente suas imperfeições. Células glandulares, tecido glandular epitelial, feixes musculares, etc. se juntam à peçonha, são triturados e parcialmente dissolvidos na solução. Embora provàvelmente não diminuisse a atividade do veneno, devem constituir antígenos estranhos. Os anticorpos lògicamente devem resultar não sòmente da parte da peçonha pròpriamente dita, mas também destas proteinas estranhas.

---

Entregue para publicação, 15.X.53.

(*) *Phoneutria nigriventer* e *Ph. fera* são justamente as espécies designadas por V. Brazil e J. Vellard como *Ctenus nigriventer* e *Ctenus ferus*. A espécie *Phoneutria nigriventer* parece ser idêntica a *Ph. fera*, devendo prevalecer o nome da última.

As titulagens do sôro, se bem que satisfatórias na prática e de acôrdo com a posição de vanguarda do Instituto Butantan, não podiam satisfazer plenamente os próprios técnicos, mesmo porque ainda não foi possível sequer estabelecer-se a LD 50 da peçonha sêca, pura.

Lutava o Instituto Butantan ainda como outra dificuldade, às vezes premente: a da falta de aranhas para obtenção da matéria prima.

Embora existisse a *Phoneutria nigriventer* pràticamente em todo o sul do Brasil, a começar pelo Estado do Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul, o interior de São Paulo, Goiás e Mato Grosso e embora sua frequência fôsse maior ao longo do litoral sul, nunca chega ela contudo a correr em abundância (exceto em algumas ilhas praianas, como a das Alcatrazes).

Nestas condições, costumava o Instituto Butantan receber nêstes últimos apenas entre 500 a 800 aranhas por ano, em média, não sendo esta quantidade suficiente para provêr com sôro todos os que dêste necessitavam (inclusive a Argentina — Dr. A. Barrio; Uruguai — Dr. McKinnon; Basiléia, Suiça — Prof. Geigh; Hamburgo, etc.).

Para contribuir, de alguma maneira, para a solução destas dificuldades, temos tentado manter estas aranhas vivas, extraír delas periòdicamente o veneno e doseá-lo para estabelecimento da LD 50 em camundongos.

## CONSERVAÇÃO DE *PHONEUTRIA NIGRIVENTER* EM LABORATÓRIO:

A conservação de *Phoneutria nigriventer* em cativeiro é relativamente fácil. Para poupar espaço, facilitar o trabalho e permitir supervisão e contrôle diários, foram construidas *gaiolas em série*, sempre 20 numa fileira, sobrepondo-se as fileiras à maneira de degraus de escada de 5. Assim, 100 gaiolas ocupam apenas uma área de 0,60 por 2 metros, encontrando a aranha espaço suficiente para seus afazeres diários.

Cada gaiolinha é individual, não se podendo colocar 2 inquilinas numa só, sob pena de luta de morte. Em cada recipiente há um vidro fronteiriço (para o contrôle), encaixado em sarrafos de maneira de modo a permitir seu levantamento ou abaixamento. O fundo é de tela fina e no tôpo existe um furo, em que se pode encaixar um tubo de vidro ou borracha, para introdução do alimento e da água, caso não se queira fazer isto através do vidro frontal.

No interior de cada gaiola há apenas uma vasilha com água potável.

A *Phoneutria nigriventer* é uma aranha robusta e corajosa. Quando adulta, atinge em média 3-4 cm. de corpo (cefalotórax e abdome) com 6-8 cm. de comprimento das pernas, podendo medir entre 11-14 cm. de uma ponta da perna à outra.

Seu colorido geral é pardo-cinza, com uma fileira longitudinal de manchas triangulares, enfileiradas, mais claras, das quais podem irradiar outras manchas, do mesmo colorido, no abdome. Em tôrno das quelíceras há longos pêlos vermelhos. O ventre é preto nas fêmeas (*Ph. nigriventer*) adultas, vermelho nos machos adultos e vermelho em ambos os sexos, antes de atingirem a maturidade sexual.

O *comportamento* desta aranha em cativeiro é idêntico ao que ela adota na própria natureza, isto é, irascível e agressivo, não recuando perante um perigo, mas colocando-se em posição de guarda. Costuma dobrar as pernas traseiras, de maneira que possam executar o papel de uma mola e permitir um salto rápido e alto (entre 30 a 40 cm.), e levantar as patas anteriores, com as garras ponteagudas erectas, para garantir a apreensão da possível vítima. Suas quelíceras recurvas distendem-se e na ponta de cada aguilhão aflora uma gotícula do veneno límpido.

A aranha enxerga muito bem e costuma acompanhar os movimentos do inimigo ou da vítima com um balanceio do corpo sobre as "molas" traseiras.

Esta atitude de guarda é típica para esta aranha. Nunca é dispensada, mesmo se, após longa permanência em cativeiro, a inquilina já se encontra mais calma.

Mesmo as nascidas em cativeiro, adotam, após 8-11 mêses de idade, a posição de ataque.

A água potável deve ser renovada com frequência. O alimento, que pode consistir em qualquer inseto vivo, camundongo recém-nascido ou mesmo num pequeno pedaço de carne fresca, deve ser dado na época quente cada 2 semanas e nos mêses de inverno cada mês ou mesmo cada 2 meses.

A alimentação é apenas interrompida, na época das mudas de pele.

A *Phoneutria nigriventer* atinge fàcilmente 4-5 anos, mesmo quando fôr submetida a extrações de peçonha em periodos certos.

Os trabalhos de limpeza, da renovação da água, da alimentação e da extração de veneno devem ser executados com o máximo cuidado, não estando mesmo isentos de perigos. A aranha acompanha perfeitamente os movimentos das mãos humanas e, quando se lhe oferece qualquer oportunidade, ela procede ao ataque e à fuga rápida.

A *mortalidade* entre os exemplares adultos, sadios, é muito baixa, girando em tôrno de 1-3% por mês apenas. Entretanto, cremos poder afirmar, à luz de nossas experiências, que, ao fim do 5º ano de vida, sobrevêm os processos naturais de "envelhecimento", seguidos no 6º ano da morte natural.

Para que se obtenham resultados positivos na obtenção de veneno puro, é preciso tomar isto em consideração, isto é, escolher apenas aranhas do 2.º e 3.º anos de vida, que possam ser mantidas como produtoras periódicas de peçonha durante 2-3 anos.

Mesmo no laboratório elas são muito prolíficas, construindo suas ootecas (às vezes 2 ou 3 em seguida), das quais eclodem centenas de filhotes.

As fêmeas são mais agressivas do que os machos e também mais robustas.

Encontram-se atualmente cêrca de duzentos exemplares de *Phoneutria nigriventer* em cativeiro, ao lado de várias centenas de filhotes, alguns já com 1 ano de idade, outros com 8 meses, outros com 4 semanas e outros recém-nascidos.

Além da produção de veneno sêco, puro, oferecem elas interessante campo para pesquisas biológicas das mais variadas.

*Obtenção de veneno puro, sêco:*

A obtenção de veneno puro constituira um ideal almejado pelo próprio Vital Brazil. Sempre se esbarrava na *tremenda agressividade* e *incrível velocidade* desta aranha, aliadas à temível e perigosa atividade da peçonha. Nunca ninguém conseguira obter veneno sêco, puro em quantidades ponderáveis.

Vital Brazil e J. Vellard imunizaram já em 1926 os primeiros carneiros com veneno puro, utilizando-se do seguinte processo na sua obtenção:

Matavam as aranhas com clorofórmio; extraíam as glândulas veneníferas; lavavam estas ràpidamente em água distilada: secavam sôbre papel de filtro e colocavam na estufa para secagem completa. Quando bem sêcas, eram *pesadas*. Depois embebiam novamente em soluto fisiológico. Suspendiam, então, uma por uma e com um bastonete se espremia levemente seu conteúdo, que era dissolvido em soluto fisiológico. As glândulas vazias eram novamente colocadas na estufa após secagem, submetidas a nova pesada.

A *diferença de pêso* entre as duas pesadas fornecia a quantidade de veneno puro, em solução no soluto fisiológico. Os pesquisadores operavam com um volume certo de soluto fisiológico. Podiam, pois, calcular em mg o veneno, contido em determinado volume de soluto, embora nunca tivessem trabalhando de fato com veneno puro, sêco.

É preciso acrescentar que a expressão glândular de *Phoneutria nigriventer* e espécies afins, com bastão de vidro, importa no esmagamento da estrutura celar destas *glândulas merócrinas*, devendo passar para os extratos muitos elementos celulares e glândulares. Que isto se tenha dado realmente com Vital Brazil e J. Vellard revela também o teor elevado de veneno puro, existente nas glândulas e indicado pela diferença das duas pesadas.

A aranha, por êles chamada de *Ctenus ferus*, conteria nada menos de 2,16 mg. de veneno puro por glândula ou seja 4,32 mg por aranha; a *Ctenus nigriventer*, isto é, a *Phoneutria nigriventer* de hoje, revelou possuir 1,25 mg. ou sejam 2,50 mg. por aranha.

Na execução de nosso propósito de obtermos realmente peçonha pura, sêca, ponderalmente determinável, imaginámos diversos métodos de extração, sem que o operador fôsse acidentado e sem que a aranha sofresse dano.

Inicialmente tentamos estudar um processo de segurar a aranha com a mão e de extrair o veneno, fazendo-a picar num papel filtro.

Mas era necessário apreender-se a aranha com pinça grande, num golpe rápido, certeiro, pois invariàvelmente ela adotava a tipica atitude de ataque. Ora se comprimia em demasia a aranha, esmagando-a parcialmente entre as hastes da pinça, ora se conseguia agarrá-la apenas por uma perna, etc...

Sua ferocidade revelava-se tamanha que, mesmo quando presa na pinça ou justamente por causa dêste vexame, ela procurava desvencilhar-se e agredir, preferindo ser despedaçada a permanecer calma.

Era impossivel proceder-se à extração manual ou elétrica da peçonha, porque falháramos na técnica da apreensão.

Uma outra tentativa vã tem sido a de fazê-la picar em papel de filtro, pois a maioria das aranhas, por mais que se movimentasse o papel em sua frente, permanecia olhando a mão do operador e aprontando o bote em direção à mesma, pouco se impressionando com a tira de papel.

Uma terceira tentativa consistiu no emprêgo de um laço de barbante, passando através de uma pipeta com lume largo e anteriormente aberto de maneira a não machucar a aranha. Introduzia-se a pipeta, com o laço na ponta, dentro do viveiro e procurava-se passar o laço em tôrno da aranha. Quando presa, puxava-se pelo barbante e a aranha ficava realmente presa e podia ser retirada. Mas havia dois inconvenientes: O maior era o de que quase sempre se machucava irremediàvelmente a aranha, pois esta, desprezando a morte, tentava desvencilhar-se com tanta energia, que era necessário apertar-se o laço de tal maneira, que às vezes até se cortava a aranha em dois pedaços; e, outras vezes, ela perdia pernas, etc.. O outro inconveniente era o da deposição da peçonha no papel de filtro, a ser extraido depois com água distilada, que precisava ser evaporada, etc., perdendo-se o contrôle sôbre as quantidades individuais do veneno.

Descobriu então o nosso valioso ajudante, Sr. José Navas, técnico do Instituto e ajudante já dos próprios Vital Brazil e Jean Vellard, que se poderia empregar um simples aparelho que consistia em duas pipetas, unidas em suas pontas por um tubo de borracha bem fina e flexível. Sem vexar a aranha, após certa provocação, ela costuma morder no tubo de borracha, perfurando-o e depositando em seu interior o veneno líquido, puro. Quando não perfura o tubo, aspira-se cômodamente o veneno espalhado na superfície do mesmo com um capilar, assoprado depois sôbre um vidro de relógio.

As experiências com êste "aparelho" deram, de fato, bom resultado. Podia-se fàcilmente irritar as aranhas e elas mordiam o tubo. Aspirava-se cada vez o veneno "extravassado" e, terminada a "extração" de tôdas, desligava-se uma pipeta e assoprava-se o conteúdo de veneno liquido sôbre o vidro de relógio. Finalmente desligava-se também a outra pipeta, procedendo-se a expressão total e completa do tubo de borracha com dois dedos.

Antes de cada extração de peçonha, lavam-se cuidadosamente as pipetas e a borracha, secando-as na estufa.

Feita a operação, seca-se o veneno sôbre o vidro de relógio, em vácuo. Após a secagem, raspa-se a peçonha que se apresenta como um pó esbranquiçado, fôfo, e pesa-se extamente o pó de peçonha, em vidro exatamente tarado.

Guarda-se o veneno sêco em dessecador escuro, sôbre cloreto de cálcio. Êste recipiente só deve ser aberto, quando se juntar nova quantidade de veneno sêco.

Protocolo da obtenção de veneno puro, sêco:

| Data da extração | Quantidade de aranhas | Ven. sêco em mg | Ven. sêco p/ aranha | Total de veneno sêco em mg |
|---|---|---|---|---|
| 11-6-53 | 8 | 11,7 mg | 1,45 mg | 11,7 mg |
| 16-6-53 | 8 | 4,2 | 0,50 | 15,9 |
| 18-6-53 | 18 | 6,3 | 0,35 | 22,2 |
| 25-8-53 | 73 | 11,1 | 0,15 | 33,3 |
| 29-8-53 | 90 | 7,4 | 0,08 | 40,7 |
| 10-9-53 | 110 | 7,8 | 0,08 | 48,5 |
| 21-9-53 | 110 | 3,9 | 0,035 | 52,4 |
| 22-9-53 | 5 (novas) | 0,9 | 0,18 | 53,3 |
| 23-9-53 | 20 | 1,3 | 0,065 | 54,6 |
| 28-9-53 | 110 | 10,6 | 0,095 | 65,2 |
| 28-9-53 | 8 (novas) | 14,7 | 1,84 | 79,9 |

79,9 miligramas de veneno puro, sêco, foram obtidos de 118 *Phoneutria nigriventer*, em 11 extrações, num periodo de 3 meses e poucos dias.

A *média total* de veneno sêco por aranha está em tôrno de 0,438 mg, isto é, de uma aranha submetida a 10 extrações em 100 dias ou seja a uma extração cada 10.° dia.

A *quantidade mínima* colhida no lote foi de 0,03 mg. e a *quantidade máxima* de 1,84 mg.

Nas reextrações sucessivas, com intervalo de 10 dias, mais ou menos, decresce o veneno quantitativamente por aranha.

De maneira alguma nos sentimos capacitados a referir desde já valores absolutos sôbre o rendimento da peçonha sêca. Para isto o período de obser-

vação é ainda curto demais (apenas 100 dias) e o número de extrações pouco elevado (apenas 11), devendo-se levar em conta ainda, que coincidia justamente com o inverno, com dias particularmente frios: até poucos graus centígrados acima de O. As aranhas não se alimentavam: permaneciam recolhidas num canto; não se mostravam muito dispostas a picar, etc..

Entretanto, mesmo assim parece elucidativo comparar os indices *minimos, médios* e *máximos* das "Primo-extrações" e das "Re-extrações" pois permitem, de alguma maneira, concluir sôbre os possiveis valores da peçonha de uma *Phoneutria nigriventer* na natureza e de quanto esta poderia inocular em picadas no inverno:

| Primo - extrações :- (Veneno sêco, puro, em miligramas, por indivíduo) | | |
|---|---|---|
| mínimo<br>0,18 | médio<br>1,16 | máximo<br>1,84 |
| Re - extrações :-<br>0,035 | 0,17 | 0,50 |

Estes dados referem-se exclusivamente ao veneno sêco, obtido por picada em tubo de borracha, isto é, ao veneno que a aranha larga voluntàriamente numa única picada. Não se exclúi, portanto, que a mesma aranha possua ainda dentro de suas glândulas outro tanto de veneno quanto o ejetado.

Nos dois lotes de 8 aranhas de 11/6 e de 28/9 que forneceram respectivamente 1,45 e 1,84 mg por individuo, observámos mesmo que apenas a metade fornecera uma dose grande, enquanto as outras quase nada deram de visivel. Isto vem confirmar que, na picada, a aranha não larga todo o veneno, e que o valor máximo, dado como 1,84 mg por individuo, pode ser duplicado em alguns espécimes grandes.

Estamos convictos mesmo de que se encontram na natureza exemplares adultos de *Phoneutria nigriventer*, que poderão injetar, em picadas repetidas, perto de 4 mg. de veneno sêco, embora isto constitua caso esporádico.

Vital Brazil e Jean Vellard colheram pelo processo da expressão das glândulas com bastonete de vidro a respeitável quantidade de 4,32 mg. por *Phoneutria nigriventer*.

Podemos, nêste conjunto, acrescentar que um *sôro anti-ctenídico*, realmente eficiente contra as representantes do gênero *Phoneutria*, deveria neutralizar pelo menos 4 a 5 mg. de veneno sêco.

*Titulação da LD 50 do veneno puro, sêco, de Phoneutria nigriventer*

*Preparativos*: No estabelecimento da dose 50% letal do veneno puro, sêco, de *Phoneutria nigriventer*, seguimos o método descrito por Reed e Muench (3). Usamos camundongos de 20 g. de peso, com tolerância, no máximo de 2 gramas. As soluções de veneno foram injetadas tanto na veia caudal (via endovenosa) como sob a pele da barriga (via subcutânea). O "*inoculum*" sempre era na quantidade de 0.5 cm³ por dose e por animal. As diversas diluições do veneno foram feitas em soluto fisiológico com pH em torno de 6,5.

TABELA I

*(veneno sêco, extraido alguns dias antes da titulação) — 11/6/53 via subcutânea:*

| Lote | Dose mg | Camundongos | | | Acumulação dos result. | | | % de mortalidade |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | total | vivos | mortos | vivos | mortos | total | |
| I | 0.0068 | 5 | 5 | 0 | 11 | 0 | 11 | 0 |
| II | 0,01 | 5 | 3 | 2 | 6 | 2 | 8 | 25 |
| III | 0.015 | 5 | 2 | 3 | 3 | 5 | 8 | 62.5 |
| IV | 0.021 | 5 | 1 | 4 | 1 | 9 | 10 | 90 |
| V | 0.032 | 5 | 0 | 5 | 0 | 14 | 14 | 100 |
| VI | 0.046 | 5 | 0 | 5 | 0 | 19 | 19 | 100 |
| VII | 0.068 | 5 | 0 | 5 | 0 | 24 | 24 | 100 |
| Fator de diluição | 1.468 | 35 | 11 | 24 | 21 | 73 | 94 | LD 50=0.0135 mg |

*LD 50 por grama de camundongo, via subcutânea = 0,00067 mg ±*

Numa *segunda* titulação, feita em 21/9/53, com veneno puro, sêco, estocado em dessecador, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, durante 3 meses, obtivemos o seguinte resultado, na repetição das mesmas diluições da tabela I:

*LD 50 por grama de camundongo, via subcutânea = 0,0007 mg. ±*

Estas duas titulações, realizadas com intervalo de 3 meses, com o mesmo veneno sêco, guardado, mas em diluições feitas à parte, revelam que é perfeitamente possível guardar o veneno sêco e que êste não perde sua atividade num periodo de 3 meses.

TABELA II

*(Veneno sêco, extraido 4 dias antes da titulação) — 15/6/53 — via endovenosa*

| Lote | Dose mg | Camundongos | | | Acumulação dos result. | | | % de mortalidade |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | total | vivos | mortos | vivos | mortos | total | |
| I | 0.001 | 5 | 5 | 0 | 27 | 0 | 27 | 0 |
| II | 0.0015 | 5 | 5 | 0 | 22 | 0 | 22 | 0 |
| III | 0.0021 | 5 | 5 | 0 | 17 | 0 | 17 | 0 |
| IV | 0,0031 | 5 | 5 | 0 | 12 | 0 | 12 | 0 |
| V | 0.0046 | 5 | 4 | 1 | 7 | 1 | 8 | 12.5 |
| VI | 0,0068 | 5 | 3 | 2 | 3 | 3 | 6 | 50 |
| VII | 0.01 | 5 | 0 | 5 | 0 | 8 | 8 | 100 |
| Fator de diluição | 1.468 | 35 | 27 | 8 | 88 | 11 | 100 | LD 50=0.0068 mg |

*LD 50, endovenosa, por grama de camundongo = 0,00034 mg ±*

Em 21/9/53 foi repetida esta experiência, empregando-se veneno puro, sêco, do mesmo estoque que o de 15/6. Conseguimos reproduzir exatamente os resultados da tabela II, com uma dose de 50% letal por via venosa e por grama de camundongo = 0,0003 mg. ±

---

Em 13/10/53 repetimos a titulação da LD 50 em camundongos com veneno puro, sêco, retirado apenas 1 dia antes de aranhas vivas. Queríamos obter maior certeza sôbre a constância de ação do veneno sêco, quer recente, quer estocado por meses.

Nesta experiência foi o veneno dissolvido em uma solução aquosa de cloreto de sódio a 8,5 o/oo com PH em tôrno de 8.5. Vital Brazil e Jean Vellard já tinham assinalado que, segundo suas experiências, era o veneno melhor dissolvido e mais ativo, quando em água de cal, isto é, quando em pH bastante alcalino, do que quando dissolvido em pH neutro ou levemente ácido. Chegaram êstes pesquisadores a distinguir entre peçonhas ácidas e alcalinas, ambas provenientes da mesma aranha, concluindo que os venenos alcalinos eram bem mais ativos do que os ácidos.

Em nossas recentes experiências com veneno puro, sêco, dissolvido em sol. de Na Cl a 0,85% com pH de 8.5, tratámos de reajustar o pH, após solução da peçonha, para 6,5, afim de que pudessemos injetar as soluções também na veia dos camundongos. Tanto esta solução como as de 15/6/53 e de

21/9/53 se apresentavam absolutamente limpidas, transparentes, sem opalescência alguma.

*LD 50 venosa por grama de camundongo = 0,00037 mg ±*

*LD 50 subcutânea por grama de camundongo = 0,00069 mg ±*

Estes novos dados vêm confirmar a não interferência do pH (6,5 ou 8,5) do soluto de veneno. Sempre a peçonha se dissolve bem, desde que se tome bastante liquido, pelos menos 6 cm³ de soluto fisiológico para 1 miligrama de peçonha. Não é necessário proceder-se à filtração, pois liquido é completamente limpido.

Por outro lado fica demonstrado também de que não há diferença de ação entre veneno puro, sêco, recente e veneno puro, sêco guardado durante 1-3 meses em vácuo, sôbre cloreto de cálcio, em ambiente escuro.

## DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A surpreendente concordância das *doses 50% mortais*, estabelecidas em 6 titulações (3 por via venosa e 3 por via subcutânea), sempre com o mesmo fator de diluição e com 7 diluições diferentes, com o emprêgo de 5 camundongos para cada uma das diluições, nenhuma margem deixa para dúvidas de que o processo de OBTENÇÃO DE VENENO PURO, SÊCO, GUARDADO EM VÁCUO SOBRE CLORETO DE CÁLCIO, EM AMBIENTE ESCURO E À TEMPERATURA AMBIENTE, seja realmente bom e aproveitável.

Acresce ainda que estas titulações foram feitas tanto com peçonha recentissima (extraida 1 ou 2 dias antes da experiência) como com peçonha guardada já durante 1-3 meses.

Também ficou elucidado que a peçonha sêca, depois de ser pesada exatamente, se dissolve perfeita e *completamente* em soluto fisiológico com PH neutro, levemente ácido ou bem alcalino.

A variação do pH não interfere na solubilidade. Importante é, entretanto, que a peçonha seja dissolvida em um volume bastante grande de solvente, na proporção mais ou menos de 6 cm³ por miligrama de veneno.

A LD 50 por via subcutânea é exatamente o *dôbro* da peçonha que mata ainda 50% por via venosa.

*O tempo de morte* dos animais revelou-se também altamente concorde nos 6 ensaios. Os animais injetados na veia com doses 100% mortais sucumbem já dentro de 10 minutos a meia hora; com doses mais ou menos 75% letais, a morte sobrevém dentro de 1 a 2 horas; e, com a quantidade de peçonha 50% mortal, entre 2 e 4 horas.

A inoculação subcutânea (sob a pele da barriga) acompanha de perto êste tempo de morte, ainda que seja sempre mais retardada: — com dose 100% mortal entre 2 a 4 horas; 75% letal entre 4 a 7 horas; 50% mortal entre 6 a 10 horas.

A intoxicação inicia-se com uma fase francamente excitatória. Os animais executam pulos e movimentos abruptos; quando quietos, reagem ao mais leve toque com um grito e um pulo desordenado.

Desde o comêço manifesta-se *dôr*. Pequenos gritos são emitidos quase que continuamente.

Sobrevèm então os sintomas de intoxicação pelo lado do sistema nervoso, com respiração curta, rápida, ofegante; suor na nuca e nas costas; tremores convulsivos e intermitentes; ataques convulsivos do tipo tônico; salivação exagerada; a paralisia se torna completa, crises de sufocação dominam o quadro; a cegueira se estabelece quase sempre.

A morte é precedida por uma crise convulsiva mesmo paralisado, rola o animal do lado, procura executar pulos e cai em absoluta prostração, seguida de morte.

A *rigidêz tetânica* é completa 5 minutos mais tarde.

A peçonha de *Phoneutria nigriventer* é muito mais ativa, pêso por pêso, do que a das serpentes do gênero *Bothrops*, equiparando-se às peçonhas mais ativas de *Crotalus terrificus terrificus* e de *Naja*.

Em face desta afirmativa, perfeitamente comprovada, é naturalmente de sumo interêsse estabelecer-se QUANTO VENENO PODE TER UM EXEMPLAR ADULTO dêste temivel aracnídeo.

O nosso processo de extração por meio de picada em tubo de borracha, não nos tem fornecido, até agora, uma resposta satisfatória.

De 8 aranhas conseguimos 1,84 mg como média individual. Quatro delas forneceram muito pouco, não visível a ôlho nú, de maneira que estamos inclinados a admitir a possibilidade de que esta colheita de fato representava apenas o veneno de 5 aranhas, o que daria 3,5 mg. de peçonha sêca por indivíduo.

Deve-se ter em mente que esta quantidade de veneno representa apenas o ejetado *numa única picada*, em tubo de borracha. Não se pode concluir que a aranha tivesse realmente esgotado sua reserva venenífera.

Realmente, 3 dias após a colheita, as mesmas aranhas já deram nova quantidade de peçonha. Vital Brazil e Jean Vellard, em suas pesquisas com veneno puro, estabeleceram 4,32 mg de veneno sêco por aranha.

Na medicina humana revestem-se dados de grande importância. A quantidade de 3,5 mg de veneno, obtida em picada voluntária num tubo de borracha, poderia eliminar 500 camundongos de 20 gramas cada, quando atingidos na veia e 250 quando picados sob pele e ainda sobrariam reservas mortíferas à aranha.

Seria o homem mais sensível ao veneno de *Phoneutria nigriventer* do que o camundongo? O fato de ter havido casos de morte humana por picada desta aranha parece justificar a pergunta.

Permanecendo, entretanto, adstritos aos fatos e admitindo-se uma sensibilidade igual a esta peçonha entre o homem e camundongo, chegar-se-ia à conclusão de que nos acidentes humanos, determinados por *Ph. nigriventer, seria o perigo tanto maior quanto menos pêso tiver a vítima.*

As crianças, até 3 anos de idade, quase sempre deveriam receber o sôro anti-ctenidico.

Os adultos poderiam ser dispensados da sôroterapia, quando não se manifestasse sintomas gerais (além da dôr quase sempre presente), como variação do pulso, dificuldades respiratórias, perturbações da visão, etc..

Não nos sentimos competentes a dizer do valor de uma soroterapia tardia, mas parece-nos, de conformidade com o que observámos quanto ao tempo de morte dos camundongos, que a injeção do sôro anti-ctenídico horas após o acidente não mais teria valor e poderia ser dispensada.

Em casos graves, deveria o sôro ser injetado, o mais tardar, dentro de 4-5 horas após o acidente ou bem mais cedo ainda.

## CONCLUSÃO

A aranha *Phoneutria nigrivente* da familia *CTENIDAE*, é realmente perigosa ao homem, principalmente às crianças nos primeiros anos de vida.

Pode-se com relativa facilidade manter esta aranha em condições de cativeiro no laboratório e extrair-lhe periòdicamente a peçonha.

Esta conserva-se muito bem, em estado sêco, em vácuo, sôbre cloreto de cálcio, em ambiente escuro e à temperatura ambiente, sem perder sua atividade.

O método de manutenção destas aranhas em laboratório e a estocagem de veneno puro, sêco, além de possibilitar trabalhos experimentais de exatidão, permitiria também a produção de sôros anti-ctenídicos de melhor qualidade e rigorosamente tituláveis e poria a fonte produtora de sôro a salvo da penúria em matéria prima.

## SUMÁRIO

Descreve-se a possibilidade de manter-se as aranhas da espécie *Phoneutria nigriventer* em recipientes de laboratório.

Com um simples "aparelho de extração" é possível obter-se periòdicamente o *veneno puro,* sem que sejam prejudicadas as aranhas.

Quando sêca, apresenta-se a peçonha como um pó esbranquiçado, com tonalidade para cinza; de muito pouco pêso, fofo e higroscópico.

Esta peçonha pode ser estocada à temperatura ambiente, em dessecador a vácuo, sobre cloreto de cálcio, ao abrigo da luz, sem que perca sua atividade após 3 ou 4 meses.

Seguindo a técnica de Reed e Muench, foram realizadas 6 titulações em camundongos, da quantidade 50% letal, 3 por via venosa e 3 por via subcutânea com amostras de peçonha sêca, recente, estocada há pouco, e guardado há mais de 3 meses.

A absoluta concordância das 3 experiências constitúi a garantia da aproveitabilidade do processo de obtenção e estocagem da peçonha.

As doses 50% letais giram, por via venosa, em tôrno de 0,00034 mg por grama de camundongo e, por via subcutânea, em tôrno de 0,0007 mg. por grama.

Foi estabelecido que uma aranha pode ter como máximo 3,5 mg de peçonha, quantidade suficiente para matar 250 camundongos de 200 gramas, em picada direta, de maneira que se justifica a conclusão de que, em acidentes humanos, poderiam verificar-se casos de morte aos primeiros anos de vida.

Os adultos não parecem correr perigo de vida, embora também possam verificar-se casos graves, manifestados clinicamente por variação do pulso, arritmias, alterações do rítmo respiratório e perturbações visuais, casos êstes que exigem a soroterapia.

A injeção do sôro deverá ser feita tão cedo quanto o possível, mas parece carecer de valor neutralizante quando decorridas já 24 horas desde o acidente.

A srta. Nicolina Pucca e ao sr. José Navas os nossos agradecimentos pelos trabalhos valiosos e pela colaboração dedicada, tanto na manutenção, extração, como na titulação da peçonha.

## SUMMARY

Specimens of the poisonous spider *Phoneutria nigriventer,* which are found along the coast of southern Brazil and around São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais and Rio Grande do Sul, etc., have been kept alive at the Laboratory.

A simple "apparatus" is described for extracting their venom every 1 or 2 weeks.

The dried venom is of white color, very hygroscopic and may be stored perfectly in a vacuum exsiccator, over calcium-chloride, at room temperature and in the dark, without apparent change of activity, even after 3 or 4 months.

According to the technic described by REED e MUENCH, 6 experiments were undertaken to establish the $LD_{50}$ in white mice, 3 experiments with intra-

venous and 3 with subcutaneous injections not only with recently dried venom, but also with venom of more than 1 to 3 months storage.

The results were in good agreement, demonstrating that the methods of obtaining the pure venom and of storing it are satisfactory.

The LD$_{50}$ per gram mouse is 0,00034 milligram intravenously and 0,0007 mg subcutaneously.

*Phoneutria nigriventer* may have 3,5 mg of venom in both glands. This quantity is sufficient to kill 250 mice of 20 gram weight.

The conclusion is justified that accidents in human beings, under 3 years of age, are quite serious, and specific serum should de given as soon as possible.

In adults the accidents are commonly not so dangerous, but general symptoms of intoxication-like disturbances of cardiac function, respiratory difficulties, blindness, etc. — always call for injection of specific serum.

Serum-therapy must be installed as soon as possible within the first 12 hours after the accident.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die giftigste Spinne Brasiliens, *Phoneutria nigriventer* (die nach unserem Dafürhalten mit *Phoneutria fera* identisch ist), die überall im Staate São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina und Rio Grande do Sul und an der südlichen brasilianischen Atlantikküste vorkommt und von da, hauptsächlich mit der Bananenverschiffung, auch nach anderen Ländern gelangt (wie Uruguay, Argentinien, ja selbst in die Hafenstädte Deutschlands), wird nun im Institute Butantas, nach einer in dieser Arbeit beschriebenen Methode, in kleinen Käfigen lebendig gehalten.

Auf ganz engem Raume befinden sich in Butantan, in den Laboratorien des Verfassers über 200 erwachsene Exemplare und mehrere Hundert Jungtiere.

Es ist nun auch erstmalig gelungen, diessen äusserst aggressiven Spinnen fortlaufend das Gift abzunehmen; alle Woche oder jede 2. Woche.

Dieses Gift wird getrocknet. Es zeigt eine weisslich-graue Färbung, ist sehr hygroskopisch und bildet einen lockeren, sehr leichten Staub.

Das so periodisch gewonnene Trockengift kan sehr gut im Vakuum, über Kalziumchlorid, bei Zimmertemperatur und Lichtabgeschlossenheit monotelang aufbewahrt werden, ohne irgendwie an Aktivität einzubüssen.

Nach der von Reed und Muench beschriebenen Methode wurden mit dem Trockengifte 6 Bestimmungen der 50% — igen tödlichen Dosis an 20 Gramm schweren Mäusen vorgenommen — 3 intravenös und 3 durch subkutane Einspritzung. Eine Bestimmung wurde mit frischen, eben gewonnenem Trockengifte, die zweite mit einem schon älteren und die dritte mit einem an die 100 Tage alten Trockengifte vorgenommen.

Die absolute Konkordanz der Resultate aller Dosierungen kann als volle Garantie angesehen werden, dass die beschriebene Methode der Giftgewinnung wie auch die Aufbewahrung des Trockengiftes als gut zu bezeichnen sind. Da die drei Versuche immer mit in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Gifte gemacht wurden, aber jedesmal bei einem anderen p H Wert (um 5-um 6, 7 und um 8,5 herum), konnte auch klar gelegt werden, das kleine pH Schwankungen die Löslichkeit nicht beeinträchtigen. Die Hauptsache ist, dass immer eine genügend grosse Lösungsmenge vorhanden ist, ungefähr 6 $cm^3$ auf 1 Milligramm Trockengift.

0,00034 Milligramm ist die 50% ige tödliche Dosis pro Gramm Maus, bei intravenöser und 0,0007 mg die bei subkutaner Injektion.

Würde man das auf erwachsene Mäuse umrechnen, so könnte eine einzige *Phoneutria nigriventer* durch ihre Bisse nicht weniger als 250 Stück Mäuse, mit je 20 Gramm Gewicht, töten.

In die Ader getroffen, würden sogar 500 Mäuse sterben.

Diese Tatsache muss auch in der menschlichen Medizin gewertet werden, zumal da Unfälle mit dieser Spinne in gewissen Gegenden Brasiliens, besonders um São Paulo herum, gar nicht selten sind. Ohne von einer viel grösseren Sensibilität des menschlichen Körpers gegen dieses Gift sprechen zu wollen, ergibt sich aus den Dosierungen an den Mäusen, dass besonders Kinder in den ersten 3 Lebensjahren durch den Biss einer dieser Spinnen lebensgefährlich verletzt werden kännt en und dass es dabei unbedingt nötig ist, so schnell als möglich, das von Butantan hergestellte "*sôro anti-ctenídico*" zu verabreichen.

Bei erwachsenen Menschen tritt die Todesgefahr viel mehr in den Hintergrund, kann aber keinesfalls als ein Ding der Unmöglichkeit bezeichnet werden. Auch bei Erwachsenen erscheint es uns notwendig, jedesmal dann das spezifische Serum zu spritzen, wenn der Patient Pulsalterationen, Herzrythmusveränderungen und Blindheitsanzeichen aufweist.

24 Stunden nach dem Bisse lohnt es sich kaum mehr, Serum zu verwenden, da das Gift entweder schon an den Nervenzellen fixiert ist und durch das Serum nicht mehr neutralisiert werden kann oder weil schon die natürliche Ausscheidung des abgebauten Giftes vor sich geht.

## BIBLIOGRAFIA

1. *Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas — Mem. Inst. Butantan, II (fasc. unico); 1925.
2. *Brazil, V. e Vellard, J.* — Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, 2.ª memoria — Mem. Inst. Butantan, III — 243-301; 1926.
3. *Reed e Muench* — Am. J. Hyg. 27, 493; 1938.

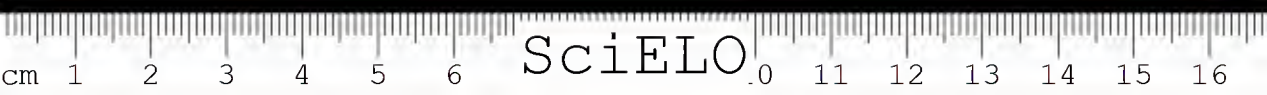



Foto 1 — Instalação para a manutenção de *Phoneutria nigriventer* em laboratório.

Foto 2 — *Phoneutria nigriventer* (Vista dorsal (tam. nat.)

Foto 3 — *Phoneutria nigriventer* (Vista ventral (tam. nat.)

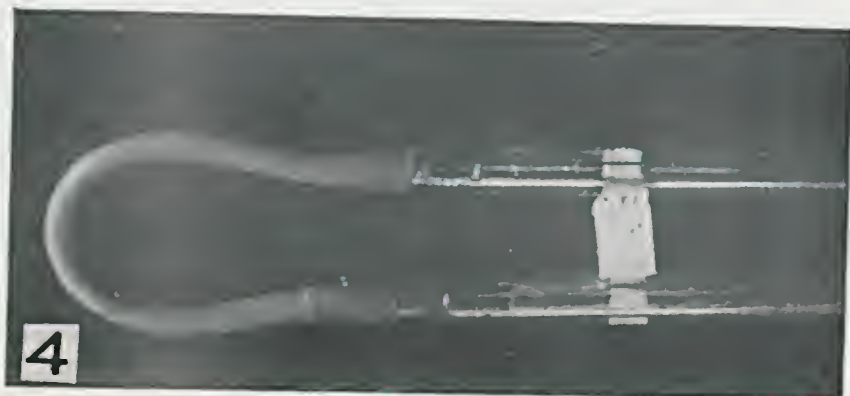



Foto 4 — "Dispositivo" para extração periódica da peçonha.

Foto 5 — O Aracnídeo picando no tubo de borracha.

Foto 6 — Outra póse de deposição da peçonha por perfuração do tubo de borracha.

Foto 7 — Deposição da peçonha sôbre um vidro de relógio.

Foto 8 — O tubo de borracha esticado permite recuperar tôda a peçonha depositada em seu interior.

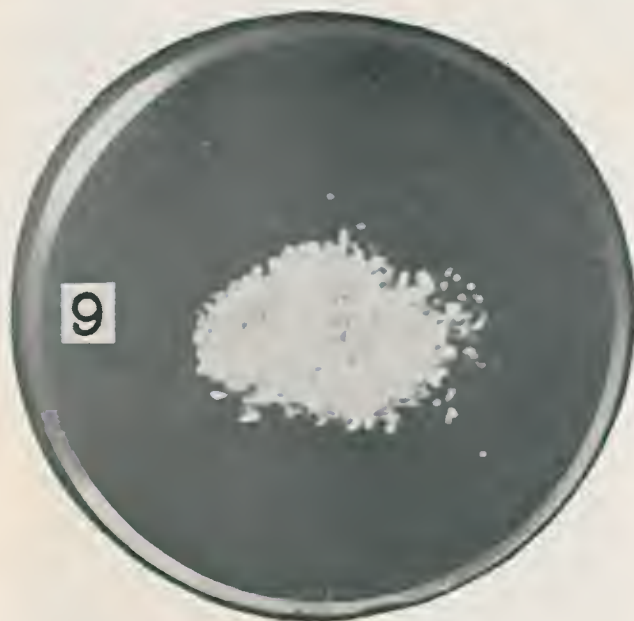



Foto 9 — Aspecto da peçonha sêca de *Phoneutria nigriventer*.

Mem. Inst. Butantan
25(1):175-176 1953


# *AUSTRALORBIS IMMUNIS* (LUTZ, 1918) HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO DE *SCHISTOSOMA MANSONI* NA CIDADE DE SANTOS, ESTADO DE SÃO PAULO

JOSÉ M. RUIZ & JOSÉ M. A. CARVALHO

(*Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil*)

Lutz deu a esta espécie o nome de *Planorbis confusus* em sua publicação original. Em 1928, substitúi a denominação especifica *confusus*, preocupada, pela de *immunis*. Essa denominação deriva da convicção do autor de que essa espécie não se presta á evolução do *S. mansoni*. Em 1938 Vianna Martins, baseado no estudo do aparelho genital e da concha de exemplares de Belo Horizonte, identificou esta espécie ao *Australorbis glabratus*, tendo ainda verificado que se apresentava altamente infestada (25%), na Vila Afônso Pena.

Em numerosos lotes de planorbídeos de diversos pontos de Belo Horizonte, inclusive da Vila Afônso Pena, capturados pessoalmente ou recebidos de nosso capturador naquela Capital, nunca encontramos a espécie *Australorbis immunis* mas exclusivamente *Australorbis glabratus*. Nossa identificação se baseia na morfologia da concha, do sistema genital completo e na morfologia do sistema renal.

Estudando os planorbideos de Santos, Estado de São Paulo, temos capturado material abundante de diversos pontos da referida cidade, em particular dos bairros de Saboó, Jabaquára, Rio da Avó, dos canais n.º 5 e n.º 6. Em todos êsses locais encontramos planorbídeos infestados por formas larvárias de *Schistosoma mansoni*.

Coutinho (1949, 1950), identificou em Santos o *Australorbis glabratus*, baseado em estudo conchológico e de parte do aparelho genital, apresentando bôas figuras. Assinalou ainda *Australorbis* sp. da qual deu figuras da concha.

Bequaert e Lucena (1950), põem em dúvida a existência em Santos de representantes do gênero *Australorbis*, mas Coutinho volta ao assunto em defesa de seu ponto de vista anterior e aparentemente demonstra a identidade entre o vetor da esquistossomose de Santos, de Caracas, Venezuela, Belo Horizonte, Bahia e Pernambuco, isto é, o *Australorbis glabratus*.

---

Entregue para publicação em 28 de Outubro de 1953.

Estudamos o material de Santos conchológica e anatômicamente pondo em evidência os pormenores do aparelho digestivo, sistema genital e sistema renal. Verificámos que ocorrem duas espécies do gênero *Australorbis*. A mais abundante e que freqüentemente constitúi a única representante dos lotes, foi identificada a *Australorbis immunis* (Lutz, 1918). Esta espécie é precisamente a que apresenta infestação pelo *Schistosoma mansoni*.

A segunda espécie, menos freqüente, corresponde ao *Planorbis nigricans* Spix, segundo Lutz, ou *Australorbis bahiensis* Dunker, segundo Baker, 1945. Esta espécie é aliás muito abundante em São Paulo, Capital, onde não foi encontrada infestada. A concha desta espécie se distingue fàcilmente da primeira pela maior altura das espiras, pela umbilicação pronunciada da face direita, que naquela é plana como em *A. glabratus olivaceus*, e pela face esquerda fortemente angulosa, ao contrário da primeira que apresenta ângulos arredondados e próximos da sutura conforme a descreveu e figurou Lutz.

Pela concha não é facil distinguir. *A. immunis* de *A. glabratus olivaceus*, embora os maiores exemplares raramente atinjam um diâmetro de 25 mm. Tambem não se consegue a separação pelo exame exclusivo da genitália que é muito próxima á de *A. glabratus*.

Pela morfologia do rim a distinção é nítida e fácil. *A. glabratus* ou a sua variedade *olivaceus* apresentam uma crista renal muito nítida, que não existe, nem vestigialmente, em *A. immunis*.

Pormenores anatômicos serão dados em publicação futura.

Table 2 (*)

*Dogs injected intravenously with several sulfones. Hemolysis represented by percentage of plasma hemoglobin in relation to total hemoglobin of blood.*

HEMOLYSIS %

| DOG | DRUG INJECTED | ml k | DDS mg/K | BEFORE | TIME IN MINUTES AFTER THE INJECTIONS | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 30 | 60 | 90 | 120 | 150 | 180 | 210 | 240 | 300 |
| 4-52-S | DIAZONE 1,805 g % | 2 | 20 | 0.0 | 0.48 | 0.48 | 0.48 | 1.97 | — | — | — | — | 1.52 |
| 8-52-S | AMGL 30 % | 1 | 130 | 0.0 | 1.18 | 1.18 | 1.13 | 1.13 | 4.45 | — | — | — | — |
| 9-52-S | AMGL 30 % | 1 | 130 | 0.0 | 0.81 | 0.81 | — | — | — | — | — | — | — |
| 10-52-S | AMGL 30 % | 0.5 | 65 | 0.0 | 1.11 | 1.6 | 1.6 | 1.7 | 2.3 | 2.8 | 3.3 | 3.7 | — |
| 12-52-S | PROMANID 40 % | 1 | 125 | 0 0 | 0.0 | 1.0 | 2.0 | 2.0 | 2.6 | 2.6 | 3.8 | 3.8 | — |
| 13-52-S | SULFENONA 40 % | 1 | 125 | 0.0 | 0.21 | 0.8 | 0.8 | 1.28 | 1.33 | 1.33 | 1.33 | 1.48 | — |

(*) Errata das Memorias do Instituto Butantan, *24* (2): 69-76, 1952: Em lugar da página 73 (Rosenfeld, G., Rzeppa, H., Nahas, L. & Schenberg, S. — Hemolysis and blood concentration of sulfones "in vivo"). inserir esta página corrigida.